

Berlin 1976

ZWEI
LIPOPHILE INHALTSSTOFFE
AUS
SAMBUCUS NIGRA L.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereiches Pharmazie

vorgelegt von
Michael Kußmaul
Kleinwallstadt/Mainfranken



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548817_0010

ZWEI
LIPOPHILE INHALTSSTOFFE
AUS
SAMBUCUS NIGRA L.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereiches Pharmazie

vorgelegt von
Michael Kußmaul
Kleinwallstadt/Mainfranken



Referent: Professor Dr. R. Hänsel
Korreferent: Professor Dr. A. Kreutzberger
Tag der Promotion: 31. Mai 1976

Holunder trocknet/wärmt/vertreibt die Wassersucht/
Hilft diesem der im Stein und Grimmen Mittel sucht.
Befördert starck den Schweiß/und stehet wider Gift/
Viel nutzlichs wird dadurch ins Menschen Leib gestift.

Aus: „Thier- Kräuter- und Berg-Buch“

von Johann Joachim Becker

Ulm 1663

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Meinem verehrten akademischen Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Hänsel, danke ich für seine wohlwollende Unterstützung, seine zahlreichen wertvollen Ratschläge und seine allseitige wissenschaftliche Förderung.

Mein herzlicher Dank gilt ebenfalls allen Mitarbeitern am Institut für die freundliche Zusammenarbeit, besonders aber Herrn W. Bähr für das Fotografieren der Spektren.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	13
2. ALLGEMEINES ÜBER SAMBUCUS NIGRA	15
2.1. Der Name.	15
2.2. Herkunft des Namens	16
2.3. Botanische Beschreibung	16
2.4. Vorkommen und Verbreitung	19
2.5. Verwechslungen und Verfälschungen	20
2.6. Anwendung und Wirkung	20
3. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN UND INHALTSSTOFFE	24
3.1. Blüten	24
3.2. Früchte	27
3.3. Blätter	27
3.4. Rinde	29
3.5. Samen	29
3.6. Mark.	29
4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN - ALLGEMEINER TEIL	31
4.1. Isolierung zweier lipophiler Inhaltsstoffe aus den Blüten von Sambucus nigra L.	31
4.1.1. Extraktion	31
4.1.2. Vortrennung und dünnschichtchromatogra- phische Charakterisierung	34
4.1.3. Feintrennung und Isolierung	35
4.1.4. Absicherung gegen Artefakte.	36

4.2. Identifizierung der Substanz Sn-1.	37
4.2.1. Voruntersuchungen	37
4.2.2. Spektroskopische Untersuchungen	37
4.2.3. Synthese und spektroskopische Unter- suchung des Methylesters.	40
4.2.4. Synthese und spektroskopische Unter- suchung des Acetates.	42
4.2.5. Synthese und spektroskopische Unter- suchung des acetylierten Methylesters .	45
4.2.6. Zusammenfassung der bisherigen Ergeb- nisse	47
4.2.7. Isolierung von Ursolsäure aus Arctosta- phylos uva-ursi als Vergleichssubstanz.	47
4.2.8. Mischschmelzpunkt, DC-Vergleich und IR-Überlagerungsspektrum.	49
4.3. Identifizierung der Substanz Sn-2.	51
4.3.1. Voruntersuchungen	51
4.3.2. Spektroskopische Untersuchungen	51
4.3.3. Synthese und spektroskopische Untersu- chungen des Methylderivates	56
4.3.4. Synthese und spektroskopische Unter- suchungen des Acetates.	58
4.3.5. Synthese und spektroskopische Unter- suchungen des acetylierten Methylesters	61
4.3.6. Synthese und spektroskopische Unter- suchungen des Laktons	63
4.3.7. ¹ H-NMR-spektroskopischer Nachweis der Alkoholgruppen.	66
4.3.8. Die Stellung der tertiären OH-Gruppe .	74
5. EIGENE UNTERSUCHUNGEN - EXPERIMENTELLER TEIL. . . .	79
5.1. Allgemeine Angaben	79
5.1.1. Chromatographie	79
5.1.2. Spektroskopie	80

5.1.3. Schmelzpunktbestimmung.	80
5.1.4. Optische Drehung.	80
5.1.5. Mikroanalysen	80
5.2. Spezielle Angaben.	81
5.2.1. Herkunft der Droge.	81
5.2.2. Extraktion.	81
5.2.3. Weiterbearbeitung des Rohextraktes. . .	81
5.2.4. Auftrennung des Äthylacetat-Auszuges. .	82
5.2.5. Strukturformeln und Rf-Werte.	84
5.2.6. Eigenschaften der Verbindung Sn-1 . . .	86
5.2.7. Methylierung von Sn-1	87
5.2.8. Eigenschaften der Verbindung Sn-1-me- thyliert.	88
5.2.9. Acetylierung der Verbindung Sn-1. . . .	89
5.2.10. Eigenschaften der Verbindung Sn-1- acetyliert	89
5.2.11. Acetylierung der Verbindung Sn-1-me- thyliert	90
5.2.12. Eigenschaften der Verbindung Sn-1- methyliert-acetyliert.	91
5.2.13. Isolierung von authentischer Ursol- säure.	92
5.2.14. Eigenschaften der authentischen Ursolsäure	92
5.2.15. Eigenschaften der Verbindung Sn-2. . .	93
5.2.16. Methylierung der Verbindung Sn-2 . . .	94
5.2.17. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-me- thyliert	95
5.2.18. Acetylierung der Verbindung Sn-2 . . .	96
5.2.19. Eigenschaften der Verbindung Sn-2- acetyliert	96
5.2.20. Acetylierung der Verbindung Sn-2-me- thyliert	97
5.2.21. Eigenschaften der Verbindung Sn-2- methyliert-acetyliert.	97
5.2.22. Laktonisierung der Verbindung Sn-2 . .	98

5.2.23. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-	
laktionisiert.	99

6. PENTAZYKLISCHE TRITERPENE ALS PFLANZENINHALTSSTOFFE.	101
---	-----

6.1. Biogenese und Endausgestaltung.	102
6.2. Analytik.	113
6.3. Biologische und pharmakologische Wirkung. . . .	118

7. DISKUSSION	122
-------------------------	-----

8. ZUSAMMENFASSUNG.	124
-----------------------------	-----

9. LITERATURVERZEICHNIS	126
-----------------------------------	-----

10. LEBENSLAUF.	135
-------------------------	-----

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

HÜFLER [1] nennt den Holunder (*Sambucus nigra* L.) „die lebendige Hausapotheke des deutschen Einödbauern“. Und in der Tat finden sich nur wenige Pflanzen, die unseren Vorfahren in gleich mannigfacher Weise nützlich waren. Funde aus steinzeitlichen Niederlassungen in der Schweiz und Italien (Terramare von Parma) beweisen, daß bereits der prähistorische Mensch Holunderbeeren zumindest zum Färben und zur Musberei- tung verwendete. In der Antike wird er von Theophrast be- schrieben, von Dioskurides, Plinius und den Hippokratikern empfohlen.

Die eigentliche Heimat des Holunders aber ist die Mitte und der Osten Europas. Hier spielt er eine gewichtige Rolle im Leben des Volkes und stieg sogar in mythologische Höhen auf: In Polen ist er der Sitz von Pikulik, dem König der Zwerge. Bei den Letten wohnte der Gott Puschkait unter seinen Zweigen. Den alten Deutschen galt er als Baum der mächtigen Frau Holle, innig mit ihr verbunden und deshalb jeder Ehrerbietung wür- dig. Vor keinem Bauernhaus durfte ein duftender, weißblühender Holunderstrauch fehlen. Niemand wollte auf seine vielfälti- ge Hilfe verzichten: Den Schläfer schützte er vor jedem Un- fall, vor Schlangen, Hexen und fieberbringenden Mücken; dem Bestohlenen half er, den Dieb zu stellen; den Ängstlichen behütete er vor Verzauberung; den Träumenden gar umtanzte er mit luftigen, lichthellen Elfen. Dem Kranken aber brachte er lindernde Heilung bei zahllosen Gebrechen, Wunden und Schmer- zen. Jedes einzelne Teil von ihm wurde zur Medizin, zum viel- gebrauchten Heilmittel. Der Inntaler sagte von ihm (nach SÖHNS [2]): „Der Holler ist ein so edler Baum, daß man vor ihm den Hut abnehmen soll, denn alles an ihm ist gesund und heilkräftig.“

Mit der aufkommenden Neuzeit büßte der Holunder allmählich seine dominierende Stellung als Volksheilmittel ein. Seine Bedeutung nahm ab. KOSTELETZKY [3] warnte zu Anfang des 19. Jahrhunderts vor der „viel zu allgemeinen Anwendung dieser oft sogar vollkommen giftartigen Droge mit oft unangenehmen

Folgen". Ebenso lehnte HALLIER [4] seine Verwendung als Universalhausmittel ab. So wird es vielleicht verständlich, daß sich die gerade erwachte moderne Phytochemie nicht mit der ihr möglichen Intensität seiner Erforschung widmete und HEGNAUER [5] im Jahre 1964 die ganze Familie noch als verhältnismäßig wenig untersucht beschreiben konnte. Sogar in der zur Zeit neuesten Arbeit über Inhaltsstoffe des Holunders von RICHTER [6] aus dem Jahre 1974 wird eine weitgehende Unklarheit über Wirkstoffe und Wirkmechanismen der „Flores Sambuci“ festgestellt, obwohl sie im Deutschen Arzneibuch verblieben sind.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit soll es daher sein, einen neuen Beitrag zur weiteren Aufklärung der chemischen Bestandteile in den als Arzneidroge besonders wichtigen Blüten zu liefern. Sie wird den Nachweis, die Isolierung und die abschließende Identifizierung zweier bisher hier nicht bekannter Triterpene beschreiben.

2. ALLGEMEINES ÜBER SAMBUCUS NIGRA

2.1. Der Name.

Von der Wichtigkeit und Verbreitung des Holunders, dem Geißblattgewächs *Sambucus nigra* L., zeugt ein Blick auf die reichhaltige Palette der Volksnamen. Dabei fällt auf, daß die Bezeichnung Holunder besonders im mittel- und oberdeutschen Raum gebräuchlich ist, während der Niederdeutsche häufiger das Wort Flieder (samt dessen abgeleiteten Formen) verwendet. Ausführliche Beispiele finden sich bei HEGI [7] und FISCHER [8]. Hier nur eine kleine Auswahl:

H o l l e r (Bayern-Österreich)
D o l d e r (Schwaben)
F l e d d e r (Ostfriesland)
E l l h o r n (Holstein)
K e e k e n b u s c h (Hannover)
K e i t s c h e (Magdeburg)
S c h i w i c k e (Sachsen)
T i n t e n b e e r e (Elsaß)
S i e k b e e r e (Oldenburg)

Zur Abrundung seien noch einige ausländische Namen angeführt:

Elder, bour-tree (England)
Hyld (Dänemark)
Seu, sus, sureau, abre de Judas (Frankreich)
Sambuco (Italien)
Buzina czornaja (Rußland)
Fehér bodza (Ungarn)
Seivamedis (Litauen).

2.2. Herkunft des Namens.

Die Herkunft des Gattungsnamens *Sambucus* ist nicht restlos geklärt. HEGI [7] vermutet einen Zusammenhang mit dem lateinischen „sabina“ = Sadebaum oder dem griechischen „sampsychnon“ = Majoran. MADAUS [9] bietet die griechische Bezeichnung „sandex“ an, womit eine Pflanze gemeint war, deren roter Saft zur Einfärbung von Leinwand verwendet wurde. GATHERCOAL und WIRTH [10] behaupten sehr vordergründig, daß der Name von dem römischen Saiteninstrument „Sambuca“ abstamme, das aus dem Holz des Holunders angefertigt wurde. Am Überzeugendsten aber erscheint eine Erklärung, die bei STERNE und ENDERES [11] zu finden ist. Hiernach leitet sich der Name von der griechischen Bezeichnung „sambux“ ab, die für das Pigment der rotfärbenden Beeren sowohl des Holunders als auch des Attichs gebraucht wurde.

Der Beinamen *nigra* bezieht sich auf die so augenfälligen schwarzen Beeren.

Auch die Abstammung des deutschen Namens *Holunder* ist noch nicht unumstritten. Zweifelsohne steckt in der Endsilbe das althochdeutsche „tar“ = Baum, Strauch. Der erste Teil des Wortes wurde des leicht zu entfernenden Markes wegen mit „hohl“ gedeutet oder aber mit der Frau „Holle“ in Verbindung gebracht, seit L.FREYTAG in der Zeitschrift des deutschen und österreichischen Alpenvereins vom Jahre 1881 eine wahrscheinliche Ableitung aufgezeigt hatte.

2.3. Botanische Beschreibung.

Der gemeine oder schwarze Holunder, *Sambucus nigra* L., gehört mit Geißblatt, Schneeball und vielen anderen Ziersträuchern und Heckenpflanzen zur Familie der Geißblattgewächse oder Caprifoliaceen. Er wird dem Tribus Sambuceae zugeteilt, der sich durch geteilte Blätter und beerenartige Steinfrüchte auszeichnet und zu dem lediglich die beiden Arten *Sambucus*

und Triosteum zählen. Er ist eine raschwüchsige, flachwurzelnde Pflanze, die als strauchähnlicher Baum maximal eine Höhe von 7 - 10 m erreichen kann. Durch die Krümmung seiner Zweige ist er bis hinab auf die Erde dicht belaubt. Seine graugesprenkelten Stämme enthalten ein weißes, sehr leichtes Mark (Medulla Sambuci) und tragen an langen Stielen unpaarig gefiederte, etwa 30 - 40 cm lange Blätter. Die Fieder sind kurzgestielt, länglich-eiförmig, geschweift zugespitzt und scharf, aber ungleich gesägt. Sie sind nur schwach behaart, oberseits etwas heller, mehr grau-grün erscheinend.

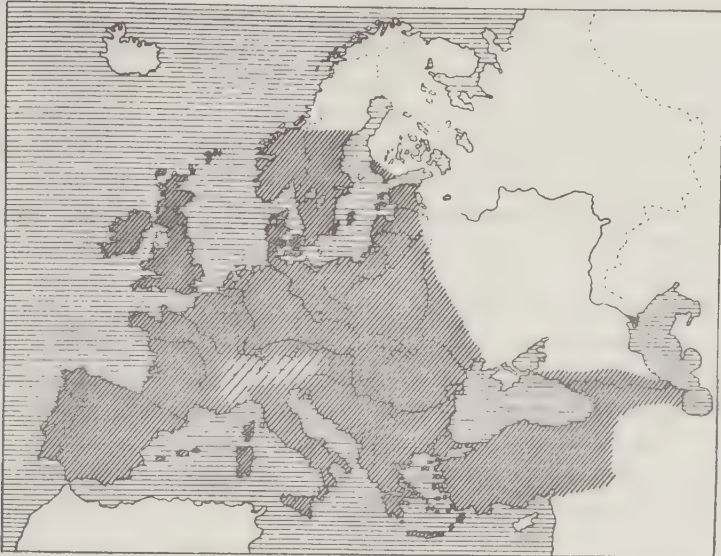
Für die in diesem Zusammenhang besonders wichtigen Blüten findet sich eine eingehende Beschreibung von AUSTER und SCHÄFER [12]: „Die stark, aber nicht angenehm duftenden, kleinen (Durchmesser etwa 5 bis 9 mm), weißen oder elfenbeinfarbenen, zwittrigen, aktinomorphen B l ü t e n stehen in großen, teils dichten, teils aufgelockerten, schirmförmigen Trugdolden. Diese Blütenstände sitzen endständig an den Zweigen, sind langgestielt und verzweigen sich meistens in 5 Hauptäste, die sich anscheinend wieder doldig und endlich gabelig aufgliedern, an den Enden der Verzweigungen je eine kleine Blüte tragend. Die gabelständigen Blüten sitzen ungestielt an der Achse wie auch die seitlichen Blüten der letzten Verzweigungen, die übrigen Blüten haben etwa 1 cm lange Blütenstielchen. Jede Blüte trägt am Grunde des Kelches 3 kleine, spitze Vorblättchen. Der grüne Kelch umschließt mit seinem verwachsenen Teil den unterständigen oder halbunterständigen Fruchtknoten und breitet an seinem oberen Ende seine 5 rundlich-dreieckigen, kurz zugespitzten Zipfel aus. Die radförmige Korolle ist auch pentamer, ihre mit den Kelchblättern alternierenden Blütenblätter sind unten zu einer sehr kurzen Blumenkronröhre verwachsen, die weißen oder schwach gelblichweißen Zipfel sind ausgebreitet, ihre Ränder sind glatt, ihre Form ist rundlich bis eiförmig, an der Spitze rund oder schwach stumpf zugespitzt. Zwischen den Zipfeln sind auf der Korolle die 5 Staubblätter inseriert, deren weiße Filamente strahlig auseinanderspreizen. Mit ihren gelben, nach auswärts gewendeten Antheren zusammen erreichen sie fast die Spitzen des Blumenkronrandes, ragen aber zwischen den Blumenkronzipfeln hervor. Die extrorsen Theken

öffnen sich längerspaltig, eine Fülle kleiner (bis $31\ \mu$ lang und $15\ \mu$ breit), gelber, elliptischer Pollenkörner freigebend. Im Mittelpunkt der Blüte erhebt sich, gekrönt von 3 kegelig-rundlichen, grünen Narben ein eirundlich bis kegelförmiger Diskus über dem unterständigen Fruchtknoten. Das Gynäceum besteht aus nur 3 Fruchtblättern, während die Blüte in allen übrigen Blattkreisen pentamer ist. Der dreifächerige Fruchtknoten enthält in jedem Fach eine hängende, anatrophe Samenanlage. Wenn im Juni oder Juli die kleinen, ziemlich unscheinbaren Blüten entfaltet sind, leuchten die weißen Schirme der Blütenstände weithin und verbreiten ihren Duft, von dem man allerdings annimmt, daß er auf eine Anzahl von Insekten abstoßend wirkt, so daß die Anzahl der blütenbesuchenden Insekten nicht sehr groß ist."

Nach dem Abblühen schwellen die Fruchtknoten zu dunkelvioioletten, fast schwarzen, kugelig-ovalen, etwa 6 mm großen Steinfrüchten an, die sich durch ihr Eigengewicht und die Biegsamkeit der dünnen Fruchtstielchen nach unten neigen und schließlich schlaff herabhängen. Die Früchte enthalten drei von hartem Endokarp umhüllte Samen. Sie werden gerne von Vögeln (Stare, Amseln, Krähen u.a.) verzehrt. Die durch das Endokarp und eine Schleimhülle vor der Verdauung im Vogeldarm geschützten Samen werden unverseht ausgeschieden und dienen somit der Verbreitung der Art.

2.4. Vorkommen und Verbreitung.

Der Holunder ist fast in ganz Europa einheimisch. Im Norden dringt er bis 63° nördlicher Breite vor* (s. Figur 1).



Figur 1: Vorkommen von *Sambucus nigra* L.
(nach MADAUS [13]).

Daneben weiteres Vorkommen in Westasien.

Seine natürlichen Standorte sind Auenwälder, Flußufer, Waldränder und Lichtungen in Wäldern, besonders da, wo Krähen nisten. Da er schon seit Jahrtausenden allgemein kultiviert wird, findet er sich auch besonders häufig in der Nähe menschlicher Wohnungen, an Zäunen und Hecken, wild und verwildert in Gärten. Mit Vorliebe wächst er auf fruchtbarem, frischem bis feuchtem Boden.

*Angaben nach MADAUS [13]. LINNE [14] fand *S. nigra* noch in der nordschwedischen Stadt Umea (64° nördl. Breite). KERNER [15] stellte etwas überrascht sein Vorkommen auch auf den Azoren fest.

2.5. Verwechslungen und Verfälschungen.

Fremde Beimischungen in den im Handel befindlichen Holunderblüten dürften mehr auf Verwechslung als auf bewußte Verfälschung zurückzuführen sein. AUSTER und SCHÄFER [12] geben eine ausführliche Beschreibung der möglichen Verunreinigungen. In erster Linie kommen dafür Blüten anderer Sambucus-Arten in Betracht.

Sambucus ebulus verrät sich durch die meist rötliche Blütenfarbe und die roten Antheren. *Sambucus racemosa* gibt sich durch eine andere Form der Blütenstände, die Behaarung der Achsenteile der Trugdolde und die grünlich- bis gelblichweiße Farbe der Blumenkrone zu erkennen.

Als Beimengungen aus anderen Familien sind Flores Spiraeae denkbar (Stammpflanze: *Filipendula ulmaria* Maxim.). Sie lassen sich aber leicht an ihren typischen Rosaceen-Merkmalen erkennen. Daneben sollen auch schon Blüten von *Achillea millefolium* L. als Verfälschungen vorgekommen sein, deren Erkennung aber keine Schwierigkeiten bereiten dürfte.

2.6. Anwendung und Wirkung.

In früheren Zeiten stellte der Holunder ein äußerst wichtiges Arzneimittel dar. Er brachte Hilfe bei zahlreichen Gebrechen und Krankheiten. Durch die moderne Medizin büßte er von seiner Bedeutung ein. Allenfalls als Diaphoretikum werden seine Blüten noch gebraucht.

Wie kamen unsere Vorfahren dazu, bei so vielen verschiedenen Krankheitsbildern Hilfe von ihm zu erwarten? Hatten sie einfach nur nichts Anderes als diesen so auffälligen, immer zur Verfügung stehenden Strauch? Kam seine Heilkraft aus der vermuteten engen Verbundenheit mit den Göttern? War der Glaube an ihn also purer Aberglaube? Oder hat die gesammelte Er-

fahrung vieler Generationen Geheimnisse entschleierte und zu nutzen gewußt, die uns heute, da wir Wirkungsvolleres zur Verfügung haben, unwesentlich geworden sind? Die Antwort auf diese Fragen muß offen bleiben. Sie kann von der heutigen Naturwissenschaft nicht erwartet werden. Keinesfalls sollte aber jede uns unverständliche Indikation von vorne herein mit einem überheblichen Lächeln abgetan werden. Im Folgenden findet sich eine Zusammenfassung der in der alten und neueren Literatur beschriebenen Anwendungen. Als Quellen wurden benutzt: HEGI [7], MADAUS [9], FISCHER [8], GATHERCOAL u. WIRTH [10], AUSTER u. SCHÄFER [12], WASICKY [16], WINKELMANN [17], DIEMER [18], BERENDES [19], GRABNER [20], DRAGENDORFF [21], LONICERUS [22], MATTHIOLUS [23].

Bei äußerlicher Anwendung sollen die Blüten Hautkrankheiten, Krämpfe, Gicht, Wespen- und Bienenstiche bekämpfen, bei entzündeten Augen und zitternden Händen, sowie bei Wunden, Geschwülsten und Geschwüren helfen. Als Tee werden sie bei Wassersucht, Katarrhen, als Diaphoretikum, Diuretikum und Expectorans gebraucht. LONICERUS und MATTHIOLUS empfehlen sie daneben als Purgans, Antifebrinum, Magenstärkungsmittel und als Leber und Milz reinigendes Mittel. In Nordamerika werden sie auch als leichtes Anregungsmittel, als Duft- und Geruchsstoff verwendet.

Als Gemüse gekocht führen die Blätter, wenn man Dioskurides folgt, Schleim und Galle ab. Als Umschläge wirken sie gegen Entzündungen und Geschwüre, helfen bei Verbrennungen und Rheumatismus, bei Kopfschmerzen, Geschwülsten und Wunden. Innerlich angewendet sollen sie ein Blutreinigungsmittel sein und eine diuretische Wirkung ausüben. Außerdem wurden auch Möbel mit ihnen eingerieben, um vor Wurmfraß zu schützen, Metallgeschirr mit ihnen behandelt, um vor Rost zu bewahren.

Die Beeren bringen Hilfe bei echten Trigeminusneuralgien. Als Mus gekocht wirken sie leicht abführend. Daneben sollen sie die Nervenfunktionen anregen, als Purgans und Emetikum dienen und bei infektiösen Brustleiden Heilung bringen. In Weinländern sollen sie außerdem gelegentlich zur Rotweinfärbung

Verwendung finden.

Die innere Rinde wird zugleich - von oben nach unten geschält - als Abführmittel und - von unten nach oben geschält - als Brechmittel genutzt. Dieser Glaube findet sich in den Schriften von Albertus Magnus, ist im südlichen und westlichen Rußland, bei den Winnebago-Indianern Nordamerikas, bei den Rumänen in der Bukowina und auch im deutschen Mittelfranken verbreitet. Weitere Anwendung findet die Rinde bei Nierenentzündungen, Herz- und Leberleiden, bei Wassersucht und Epilepsien. Die Bastrinde soll da einspringen können, wo Coffein und Digitalis versagen. Bei Menstruationsverhalten wird die Rindenabkochung angewendet.

Die Wurzel hilft, in Wein gekocht, bei Wassersucht und Schlangenbissen (Dioskurides). Auch wird ihr abführende Wirkung zugeschrieben. In Polen ist sie ein Diuretikum.

Was hat aus diesem reichhaltigen Angebot an Anwendungsmöglichkeiten heute noch eine echte Bedeutung? - Lediglich der aus den Blüten bereitete Tee wird noch bei infektiösen Erkältungskrankheiten getrunken. Und auch da wurde behauptet (z.B. von EICHHOLTZ [24]), daß die erhöhte Diaphorese allein auf der Zufuhr an heißem Wasser beruhe, In den Erinnerungen des bekannten Arztes A.KUßMAUL [25] findet sich eine hübsche Episode, die aufzeigt, daß schon im Jahre 1846 diese Frage umstritten war:

„Teuffel* prüfte mich eingehend nach wohl erwogenem Plan über die schweißtreibenden Heilmittel; ich zählte sie sämtlich mit Einschluß des Aderlasses, der Brechmittel usw. vollständig auf, so viele ihrer eben damals bekannt waren - es waren lange nicht so viele, als es heute gibt -, vergaß auch zum Schluß die Linden- und Holderblüten nicht. Er nickte zufrieden und wollte nur noch wissen, welche von diesen Blüten am stärksten Schweiß treibe. Da juckte es mich un-

* Siegmund Teuffel: Großherzoglich Badischer Geheimer Rat, Vorstand der medizinischen Prüfungskommission.

widerstehlich, den Teufel zu necken, und ich meinte, sie wirkten im Aufguß mit gleicher Stärke, wenn sie gleich heiß getrunken würden. Mit väterlicher Miene wies er mich zurecht, meine Vermutung widerspreche seiner langen Erfahrung, die flores sambuci Überträfen die flores tiliae bei weitem an diaphoretischer Kraft."

Die bemerkenswerten Versuche von WIECHOWSKI [26], der seine Experimente an Menschen durchführte, da sich das Schwitzen an Tieren schlecht beobachten läßt, zeigten, daß gewisse glykosidische, chemisch nicht reine Substanzen aus den Blüten starke Reize auf den Schweißmechanismus ausübten. Diese Ergebnisse überholten die Ansichten älterer Autoren, die das ätherische Öl für die diaphoretische Wirkung verantwortlich machten. WIECHOWSKI's Resultate wurden in einer relativ neuen Arbeit (1964) von SCHMERSAHL [27] bekräftigt, in der die Wirkung auf die Flavonolglykoside eingeengt wird. Bedenkenswert ist, was AUSTER und SCHÄFER [12] unterstreichen. Sie sehen in der verschiedenen Reaktionsbereitschaft des gesunden und kranken Organismus den Schlüssel für die im Ganzen doch wenig befriedigenden pharmakologischen Versuchsergebnisse einerseits und den immer wieder zu beobachtenden Erfolgen am Krankenbett andererseits.

Eine andere von modernen Pharmakologen beobachtete Wirkung der Holunderblüten liegt in ihrem sexualhormonähnlichem Verhalten. MUCH [28] untersuchte und beschrieb die chemisch nicht näher definierten „Thelykinine“, die bei Mäusen dasselbe Ergebnis wie das Follikelstimulierende Hormon hervorriefen.

MADAUS [13] berichtete ohne nähere Angaben, daß der wäßrige Auszug der Blüten Bacterium coli tötet.

Eine weitere wissenschaftlich geprüfte Wirkung liegt im antineuralgischen Effekt des Holundersaftes (Succus Sambuci in-spissatus e fructibus). MADAUS verweist hierzu auf die Veröffentlichungen von EPSTEIN UND JOCKEL (1914), VETLESEN (1916) und K.MÜLLER (1936). Alle drei Autoren behandelten mit dem größten Erfolg Trigeminusneuralgien. VETLESEN heilte zudem 13 Fälle von Ischias.

3. FRÜHERE UNTERSUCHUNGEN UND INHALTSSTOFFE

In diesem Kapitel soll eine möglichst vollständige Zusammenstellung der wichtigsten bisherigen Untersuchungen gegeben werden. Dabei wurde die Tatsache nicht besonders gewertet, daß der größere Teil der gefundenen Inhaltsstoffe nur chromatographisch nachgewiesen wurde. Die einzelnen Pflanzenteile, die sich natürlich auch chemisch stark unterscheiden, werden getrennt behandelt.

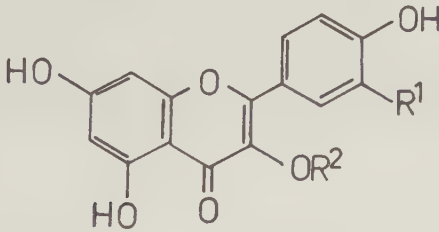
Eine lesenswerte Übersicht der früheren Untersuchungen des Holunders findet sich bei AUSTER und SCHÄFER [12]. Leider reicht sie nur bis in das Jahr 1956.

3.1. Blüten.

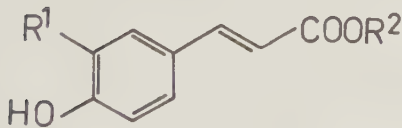
Die Blüten (s. Figur 2) sind wegen ihrer besonderen arzneilichen Bedeutung der am besten chemisch untersuchte Teil des Holunders. Im Jahr 1885 wies KUNZ [29] das Cholin als ersten Inhaltsstoff nach. HAENSEL [30] fand 1901 Palmitinsäure und Tricosan als Bestandteile des ätherischen Öls. Das Rutin wurde 1921 von LLOYD [31] entdeckt. Bei WEHMER [32] finden sich des weiteren Valerian- und Essigsäure, sowie das Kalziumsalz der Äpfelsäure. Daneben auch Schleim- und Gerbstoffe und Spuren eines Nitrilglykosids. WINKELMANN [17] nennt außerdem Bitterstoffe, Harz und Weinstein.

1958 beobachtete STROH [33] papierchromatographisch neben dem bekannten Rutin auch Isoquercetin, Kaffeesäure und Chlorogensäure. 1962 wies er außerdem die β -Glukoseester der Kaffeesäure und der Ferulasäure nach und berichtete von drei isomeren Estern der Kaffeesäure mit Glukose [34].

SCHMERSAHL [27] setzte 1964 die Erforschung der Phenolkörper fort und beschrieb die chromatographische Entdeckung der p-Cumarsäure, des Astragalins, des Kämpferols, des Quercetins und vermutete das Vorhandensein von Nicotiflorin.

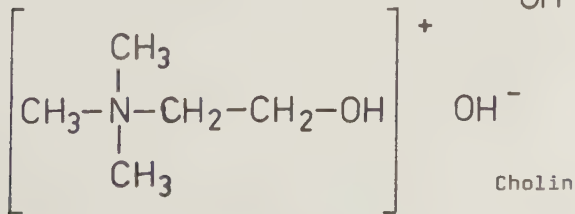
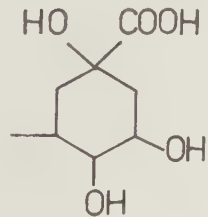


Kämpferol	$R^1 = H, R^2 = H$
Astragalin	$R^1 = H, R^2 = \text{Glukose}$
Nicotiflorin	$R^1 = H, R^2 = \text{Glukose-Rhamnose}$
Quercetin	$R^1 = OH, R^2 = H$
Isoquercetin	$R^1 = OH, R^2 = \text{Glukose}$
Rutin	$R^1 = OH, R^2 = \text{Glukose-Rhamnose}$



p-Cumarsäure	$R^1 = H, R^2 = H$
Kaffeesäure	$R^1 = OH, R^2 = H$
Ferulasäure	$R^1 = OCH_3, R^2 = H$
Chlorogensäure	$R^1 = OH, R^2 =$

Chinasäure



Figur 2: Die wichtigsten, bisher gefundenen Inhaltsstoffe aus den Blüten des Holunders.

Über die Menge des ätherischen Öls in den Blüten gab es unterschiedliche Angaben. WINKELMANN [17] z.B. berichtete von 0.3 %, GILDEMEISTER [36] aber nur von 0.027 %. Erst RICHTER und WILLUHN [6] unternahmen 1974 eine ausführliche Unter-

Fettsäuren	66.0 %
Phenolkörper	0.8 %
Paraffin-Kohlenwasserstoffe	7.2 %
Terpen-Kohlenwasserstoffe	1.0 %
Sauerstoffhaltige Bestandteile	14.0 %

Figur 3: Die Fraktionen des ätherischen Öls nach RICHTER und WILLUHN [6].

suchung der mengenmäßigen Verhältnisse und der verschiedenen Bestandteile. Sie trennten das ätherische Öl in mehrere Hauptfraktionen auf (s. Figur 3) und identifizierten 17 Fettsäuren und 18 n-Alkane (s. Figur 4).

Capronsäure	Palmitinsäure
Oenanthsäure	Palmitoleinsäure
Caprylsäure	Heptadecansäure
Pelargonsäure	Stearinsäure
Caprinsäure	Ölsäure
Undecansäure	Linolsäure
Laurinsäure	Linolensäure
Tridecansäure	
Myristinsäure	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$
Pentadecansäure	$n = 12-29$

Figur 4: Die von RICHTER und WILLUHN identifizierten Fettsäuren und n-Alkane.

In ihren neuesten Untersuchungen konnten WILLUHN und RICHTER [36] weitere lipophile Inhaltsstoffe identifizieren. Sie fanden die Triterpene α -Amyrin, β -Amyrin, Ursol-

säure, Cycloartenol, 24-Methylcycloartenol, sowie die Sterine Cholesterin, Campesterin, Stigmasterin und Sitosterin.

Die frischen Blüten haben außerdem einen recht hohen Gehalt (82 mg%) an Vitamin C (SCHWARZE und GÜNTHER [37]).

3.2. Früchte.

Die Holunderbeeren enthalten neben der aromatischen Aminosäure Tyrosin (SACK und TOLLENS [38]) einige häufig vorkommende Verbindungen wie Invertzucker, Äpfelsäure und Gerbsäure (WEHMER [32]).

Wichtig ist der Gehalt an verschiedenen Vitaminen. KRUGER [39] beschreibt Vitamin C, SCHEERER [40] findet das Carotin (Vitamin A) und WINKELMANN [17] zählt die Vitamine A, B₁ und B₂ als Inhaltsstoffe auf.

REICHEL [41] fand vier Anthocyane, von denen zwei identifiziert werden konnten: Chrysanthemin und Sambucyan (= Cyanidin-3- β -sambubiosid). Der neue Zucker Sambubiose ist das 2- β -Xylosid der Glukose.

1971 wies LEIFERTOVA [42] in den reifen Früchten Fructose, Glukose, Galaktose, Sucrose und Pektin mit papierchromatographischen Methoden nach.

Nur in unreifen Früchten findet sich nach WEHMER [32] ein blausäureabspaltendes Glykosid (s. Blätter).

3.3. Blätter.

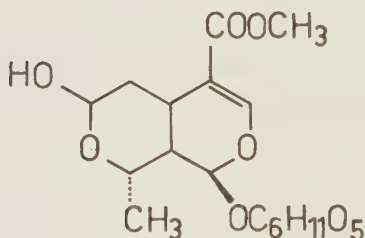
Das auch in den Blüten und Früchten vorkommende Blausäureglykosid findet sich hier in der relativ größten Konzentration (MALMEJAC [43]). BOURQUELOT und DANJOU [44] nannten es Sambunigrin. Es ist isomer mit dem Amygdalin der bitteren Mandeln. Die frischen Blätter haben einen hohen Vitamin C - Gehalt (SCHWARZE und GÜNTHER [45]). WILLSTÄTTER und STOLL [46] fan-

den Carotin.

DE SANCTIS [47] entdeckte schon 1884 eine Base, die sich wie Coniin verhielt. MALMEJAC [44] isolierte 1901 ein weiteres Alkaloid, das er Sambucin nannte. Das Vorkommen von Alkaloiden im Holunder wurde später von anderen Autoren nicht bestätigt. Erst in neuerer Zeit (1965) kam eine russische Arbeit wieder zu dem gleichen Ergebnis (GUSEJNOVA [48]). Die Identität der einen Substanz mit dem Coniin wurde chromatographisch festgestellt. Daneben wurden in der gleichen Veröffentlichung folgende Bestandteile der Blätter nachgewiesen: Rutin, Flavonoide, Bitterstoffe, Harze, Zucker, Pektine, organische Säuren, ätherisches Öl, Vitamin K.

PRIVAT [49] beschreibt das Vorkommen von Oleanolsäure und Ursolsäure. FISCHER [8] nennt Emulsin, Invertin und Saccharose.

In jüngster Zeit wurde von der Isolierung des Iridoids Morronisid (s. Figur 5) berichtet (R. JENSEN und NIELSEN [50]) und die Identifizierung einer Reihe von lipophilen Verbindungen, wie n-Nonacosan, n-Hentriacontan, C_{25} - C_{31} -n-Alkane, Sitosterin, Stigmasterin, Campesterin, α -Amyrin, β -Amyrin und einigen Fettsäuren beschrieben (INOUE und SATO [51]).



Figur 5: Morronisid.

3.4. Rinde.

Auch in der Rinde fand MALMEJAC [44] das coniinähnliche Alkaloid, das er Sambucin nannte. YARDIN [52] fand Cholin und ebenfalls Substanzen mit Alkaloideseigenschaften. LUWISCH [53] isolierte 1926 ein Phytosterin (Schmp. 143⁰) und zwei Stoffe mit den Bruttoformeln $C_{23}H_{40}O_2$ und $C_{27}H_{48}O$. Ebenfalls 1926 entdeckte ZELLNER [54] Cerylalkohol neben drei nicht weiter identifizierten Substanzen. Auch 1964 erschienen zwei Arbeiten. HUNECK [55] gelang die Isolierung von Ursolsäure (als Methylester), Betulin, α -Amyrin, β -Sitosterin und n-Heptacosan. LAWRIE [56] fand zusätzlich Oleanolsäure und α -Amyrenon.

3.5. Samen.

In zwei Arbeiten untersuchte GIGIENOVA [57,58] das Öl der Samen. Sie konnte 14 Fettsäuren chromatographisch nachweisen.

3.6. Mark.

Das Mark besteht nach AUSTER und SCHÄFER [12] vor allem aus Xylan, einer Hemizellulose, die aus Xylose, einer Pentose aufgebaut ist.

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN - ALLGEMEINER TEIL

4.1. Isolierung zweier lipophiler Inhaltsstoffe aus den Blüten von SAMBUCUS NIGRA L.

4.1.1. Extraktion.

Zwei hauptsächliche Fragestellungen können für Extraktions- und Isolierungsversuche an Pflanzen maßgebend sein: (a) Die Erforschung chemotaxonomischer Zusammenhänge und (b) die Suche nach biologisch (im engeren Sinne pharmakologisch) wirksamen Stoffen. Bei den Überlegungen zu der vorliegenden Arbeit wurde versucht, beide Gesichtspunkte zu berücksichtigen und die Auswahl des Extraktionsverfahrens und der Vortrennung nach ihnen auszurichten.

Ad (a): Zur chemotaxonomischen Bewertung können alle Sekundärstoffe mit niedrigem Molekulargewicht herangezogen werden, die als Nebenprodukte aus grundlegenden Stoffwechselvorgängen entstanden sind (z.B. Alkaloide, Flavonoide, Terpenoide). Verbindungen mit sehr weiter Verbreitung (z.B. Xanthin) sind ebenso wie singuläre Stoffe weniger geeignet. Komplexe Strukturen erhöhen gegenüber einfachen den Aussagewert. S. auch HEYWOOD [59] und GIBBS [60].

Ad (b): Figur 6 zeigt Gruppen von Pflanzeninhaltsstoffen, die in etwa nach absteigender Polarität geordnet sind. Stoffe mit auffallender pharmakologischer Wirkung finden sich bevorzugt im Mittelteil der Tabelle, d.h., ihr Verteilungskoeffizient in einem Öl-Wasser-Gemisch wird sich in der Nähe des Wertes 1 befinden. Zu lipophile Substanzen (Verteilungskoeffizient $\gg 1$) werden bei oral angewandten Arzneiformen (wie z.B. auch beim Holunderblütentee) durch ihre geringe Löslichkeit in der Magen-Darm-Flüssigkeit und ihre Kristall-

Anorganische Salze	polar
Organische Salze	
Aminosäuren	
Monosaccharide	
Oligosaccharide	
Glykoside	
Alkaloide (als Salz hydrophil)	
Alkaloide (als freie Base lipophil)	
Cumarine, Anthrachinone, Flavanoide	
Steroide (Herzglykoside)	
Terpene (mit O-Funktion)	
Ester, Fette, Öle	
Ätherische Öle	
Carotinoide	
Reine Kohlenwasserstoffe	unpolar

Figur 6: Anordnung von Pflanzeninhaltsstoffen
nach ihrer Polarität.

größe nur schlecht resorbiert, soweit sie überhaupt durch die Art der Drogenzubereitung in die Applikationsform gelangen konnten. Andererseits werden zu hydrophile Substanzen (Verteilungskoeffizient $\ll 1$) die biologischen Membranen des menschlichen und tierischen Organismus, die alle einen lipophilen Charakter besitzen, nicht passieren können. Sie haben zudem nur eine sehr geringe Affinität zu den Plasmaproteinen und zu den makromolekularen Strukturen des Gewebes. Die pharmakologische Wirkung eines Stoffes ist unter anderem demnach auch eng mit einem ausgewogenen Polaritätsverhalten gekoppelt. S. auch FUJITA [61], HANSCH [62], HÄNSEL [63,64], KRIEGLSTEIN [65].

Auf Grund dieser Überlegungen wurde T o l u o l als Extraktionsmittel ausgewählt. Es nimmt einen mittleren Platz in der Reihe der nach ihrer Polarität geordneten Lösungsmittel ein (s. Figur 7). Seine Extraktivkraft würde nicht ausreichen, um die schon relativ gründlich untersuchten Phenolkörper (Flavonoide, Depside) aus der getrockneten Droge herauslösen zu

Lösungsmittel	Dielektrizitäts- konstante (25 ⁰ C)	
n-Hexan	1.890	(20 ⁰)
Heptan	1.924	(20 ⁰)
Cyclohexan	2.015	
Tetrachlorkohlenstoff	2.228	
Benzol	2.274	
Toluol	2.379	
Diäthyläther	4.335	(20 ⁰)
Chloroform	4.806	(20 ⁰)
Essigsäureäthylester	6.02	
Methylenchlorid	9.08	(20 ⁰)
Aceton	20.07	
Äthanol	24.3	
Methanol	32.63	
Wasser	78.54	

Figur 7: Die gebräuchlichsten Lösungsmittel mit ihren Dielektrizitätskonstanten als Maß für ihre Polarität [66].

können. Es sollte aber andererseits polar genug sein, um neben den von RICHTER [6] ausgiebig erforschten extrem lipophilen Inhaltsstoffen weitere weniger hydrophobe Substanzen in den Rohextrakt gelangen zu lassen, die den oben besprochenen Anforderungen entsprechen könnten. Eine Rolle bei der Auswahl spielte auch sein gegenüber Benzol und CCl₄ geringerer MAK-Wert.

Die im Versuchsteil näher beschriebene Extraktionsdurchführung ergab ein leicht schmieriges, gelbliches Pulver, das an Gewicht 4 % des lufttrockenen Ausgangsmaterials betrug.

4.1.2. Vortrennung und dünnenschichtchromatographische Charakterisierung.

Ziel der Vortrennung sollte es sein, den am wenigsten lipophilen Teil des Rohextraktes zu gewinnen. Um dies zu erreichen, wurde der gesamte Toluolextrakt möglichst fein in einem großen Überschuß an Kieselgur verteilt und auf eine Säule mit Kieselgur gegeben. Die anschließende Eluierung mit verschiedenen, wiederum in ihrer Polarität ansteigenden Lösungsmittel (s. Figur 7) erbrachte das in Figur 8 tabellierte Ergebnis.

Lösungsmittel	Ausbeute bez. auf	
	Ausgangsmaterial	Rohextrakt
1. Petrolbenzin	2.4 %	60 %
2. Toluol	0.3 %	7.5 %
3. Chloroform	0.3 %	7.5 %
4. Essigsäureäthylester	1.0 %	25 %

Figur 8: Prozentuales Ergebnis der Vortrennung.

Der Vorteil dieses Vortrennungsverfahrens liegt in folgenden Punkten:

- 1.) Einfache Zurückgewinnung und damit verbundene Wiederverwendungsmöglichkeit der Lösungsmittel.
- 2.) Sparsamer Materialverbrauch. Für die Aufarbeitung des Rohextraktes aus 10 kg Droge genügten der Ansatz einer einzigen Säule und insgesamt nur 1000 g Kieselgur.
- 3.) Geringer Arbeitsaufwand.

Ein Nachteil ist vielleicht der verhältnismäßig hohe Zeitbedarf. Der beschriebene Versuch nahm 14 Tage in Anspruch.

Der Essigsäureäthylester-Auszug des Toluolextraktes wurde dünnenschichtchromatographisch überprüft und erwies sich als ein Gemisch aus zwei Stoffen, die im Folgenden als Sn-1 und

Sn-2 bezeichnet werden. Die Detektion der beiden Substanzen war nur mit Hilfe von Sprühreagenzien möglich. Eine Beschreibung der Anfärbungen gibt Figur 9.

	Anisaldehyd/ Phosphorsre.-R.	Vanillin/ Schwefelsre.-R.	Chlorsulfonsre./ Eisessig-Reagenz
Sn-1	violett	rotviolett	karminrot (366 nm)
Sn-2	violett	rotviolett	bläßrot (366 nm)

Figur 9: Anfärbungen von Sn-1 und Sn-2 mit verschiedenen Sprühreagenzien. Genaue Zusammensetzung der Reagenzien im Versuchsteil.

In Figur 10 sind einige kennzeichnende Rf-Werte der beiden Verbindungen zusammengestellt.

	Toluol 7 Aceton 3	Methanol 5 CHCl ₃ 95	Cyclohexan 3 Äthylacetat 7
Sn-1	0.59	0.52	0.61
Sn-2	0.36	0.23	0.43

Figur 10: Rf-Werte von Sn-1 und Sn-2 in verschiedenen Laufmitteln (DC, Kieselgel).

4.1.3. Feintrennung und Isolierung.

Der Essigsäureäthylester-Auszug wurde in der vierfachen Menge Kieselgur fein verteilt und auf eine kurze Säule mit Kieselgel gegeben. Mit Toluol/Aceton (92:8) wurde Sn-1 eluiert, das nach Umkristallisation aus Äthanol in Form von feinen Nadeln erhalten wurde. Weitere Elution mit hydrophilerem

Toluol/Aceton-Gemisch ergab Sn-2, das in Äthanol als unscheinbare, unregelmäßig geformte Plättchen auskristallisierte. Die Ausbeute, bezogen auf die luftgetrocknete Ausgangsdroge, betrug bei Sn-1: 0.9 %, bei Sn-2: 0.03 %.

4.1.4. Absicherung gegen Artefakte.

Für die Entstehung von ungewollten Kunstprodukten bei Arbeiten mit Pflanzenmaterial können zu hohe Temperaturen beim Extrahieren der Droge oder beim Einengen der Extrakte, Lichtempfindlichkeit, Säureeinwirkung und andere, nicht immer leicht zu vermeidende Faktoren verantwortlich sein. Als eine möglichst weitgehende Absicherung gegen diese Gefahr wurde eine kleine Menge frisch abgepflückter Holunderblüten unter Lichtausschluß kalt extrahiert und auf dem beschriebenen Weg weiter bearbeitet. Auf diese Weise konnte sichergestellt werden, daß Sn-1 und Sn-2 genuine Inhaltsstoffe von Sambucus nigra sind.

4.2. Identifizierung der Substanz Sn-1.

4.2.1. Voruntersuchungen.

Neben der Festlegung des Schmelzpunktes:

Schmp. $285-286^{\circ} \text{C}$

und der Messung der spezifischen Drehung:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +66^{\circ} \quad (c = 0,2, \text{Pyridin})$$

war vor allem die Elementaranalyse von Bedeutung. Aus dem Ergebnis (Gef.: C 78,3 %, H 10.6 %. Berechn.: C 78.9 %, H 10.5 %) läßt sich in Verbindung mit der positiv ausgefallenen Reaktion nach LIEBERMANN-BURCHARD (Probe auf Steroide und Triterpene) die Summenformel $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (456.7) ableiten [67] und die Zahl der Doppelbindungsäquivalente mit 7 bestimmen [68].

4.2.2. Spektroskopische Untersuchungen.

Aufgenommen wurden das IR-, das NMR- und das Massenspektrum. Im ultravioletten Bereich zeigte die Substanz Sn-1 keine Absorption. Chromophore Gruppen und ein aromatischer Charakter der Verbindung konnten damit ausgeschlossen werden.

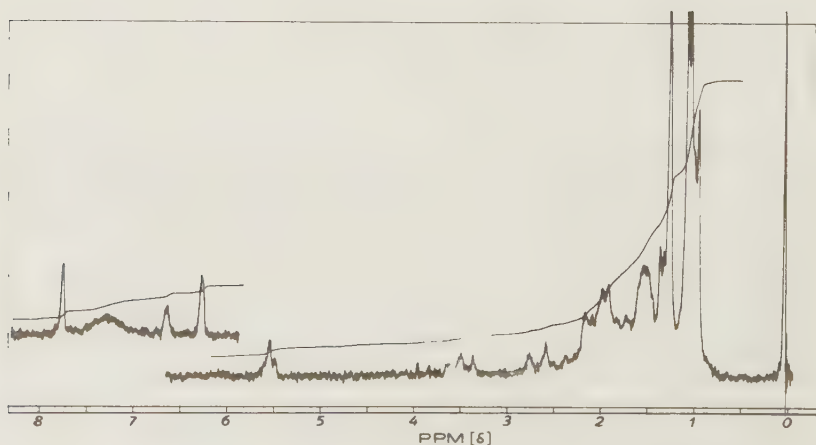
Auch im IR-Spektrum (s. Figur 11) fehlen die für Aromaten typischen Banden, insbesondere zwischen 3080 und 3030 cm^{-1} (CH-Valenzschwingungen), bei 1600 und 1500 cm^{-1} (Skelett-schwingungen) und im „fingerprint“-Bereich zwischen 900 - 735 cm^{-1} („out of plane“-Schwingungen).

Auffällig dagegen ist die breite Bande zwischen 2500 und 3500 cm^{-1} (Streckschwingungen), die auf Carbonsäuren hinweist. Diese Beobachtung findet ihre Bestätigung durch die starke

Absorption bei 1705 cm^{-1} . Eine weitere Bande bei 3520 bis 3380 cm^{-1} , die auf freie oder assoziierte OH-Gruppen hinweisen könnte, ist nicht scharf genug ausgeprägt. Hier würde ein in einem unpolaren Lösungsmittel (CHCl_3 , CCl_4) aufgenommenes Spektrum eine deutlichere Aussage machen als das vorliegende, das mit einem KBr-Preßling angefertigt wurde. Die schlechte Löslichkeit von Sn-1 steht dem aber entgegen. Auffällige Banden bei ca. 2950 und 2860 cm^{-1} (CH-Valenzschwingungen) und bei ca. 1450 und 1380 cm^{-1} (CH-Deformationsschwingungen) werden von CH_3 - und $-\text{CH}_2$ -Gruppierungen verursacht.

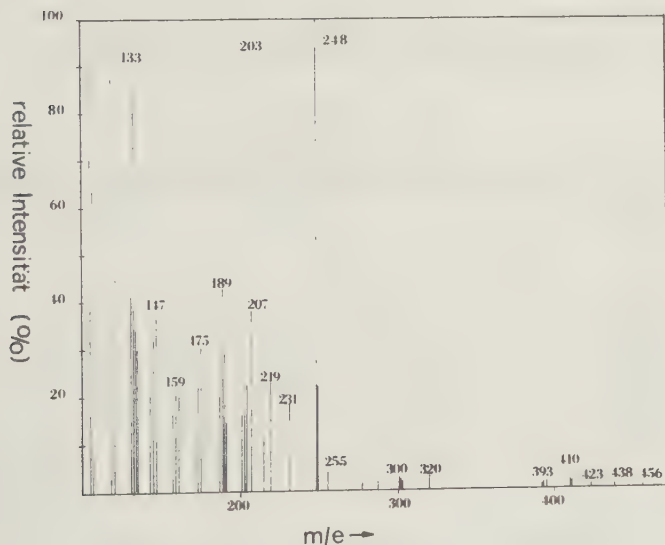


Figur 11: IR-Spektrum der Verbindung Sn-1.



Figur 12: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-1 (60 MHz, Pyridin).

Dem NMR-Spektrum (s. Figur 12) können weitere Hinweise entnommen werden. Bemerkenswert ist hier vor allem die Konzentrierung der Signale im Bereich von 0.8 bis 2.2 ppm (δ). Vier deutlich unterscheidbare Peaks erheben sich aus dem Komplex der sich überlagernden Resonanzen. Mit Hilfe der Integration können aus ihnen sieben Methylgruppen errechnet werden. Bei 5.45 ppm (δ) liegt das kaum aufgespaltene Multiplett eines einzelnen Protons. Diese Lage entspricht der chemischen Verschiebung für Protonen an einer Doppelbindung. Zwischen 8.1 und 8.4 ppm (δ) findet sich ein mit D_2O austauschbares Signal, das auf ein möglicherweise durch Wasserstoffbrückenbildung stark entschirmtes OH-Proton hinweist.



Figur 13: Massenspektrum der Verbindung Sn-1.

Das Massenspektrum (s. Figur 13) bestätigt das Ergebnis der Elementaranalyse: Der Molekülpeak liegt bei m/e 456. Er ist nur schwach ausgeprägt. Massenverluste von 18 (m/e 438),

33 (m/e 423) und 46 (m/e 410) deuten auf das Fragmentierungsmuster von Alkoholen hin. Der Massenpeak (m/e 248) fällt wegen seiner Geradzahligkeit auf.

Soweit der erste Überblick auf die vorliegenden Spektren. Sie lassen, zusammen mit dem Ergebnis der Voruntersuchungen, folgende Schlüsse zu:

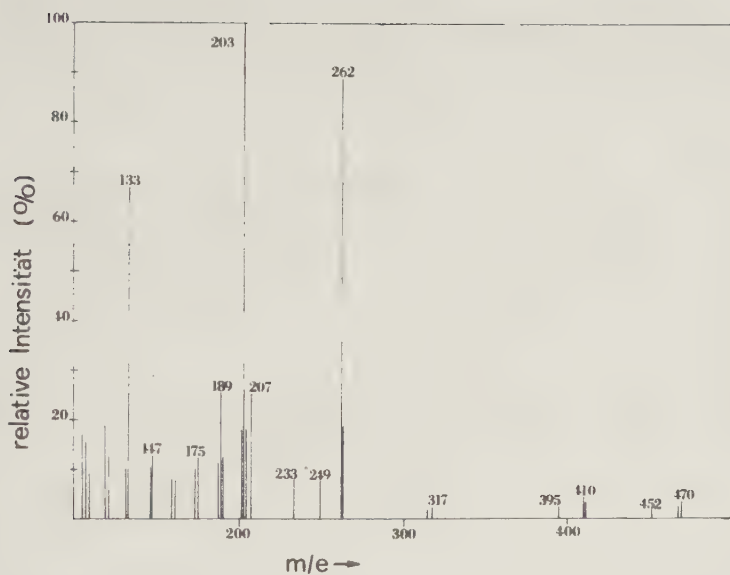
Bei der Substanz Sn-1 handelt es sich um ein Triterpen (s. LIEBERMANN-BURCHARD-Reaktion, Elementaranalyse) mit vermutlich je einer Säure- (vgl. IR-Spektrum) und Alkoholfunktion (vgl. Massenspektrum). Bestätigt sich neben der Säuregruppe auch das Vinylproton (vgl. NMR-Spektrum), kann auf Grund der dann übrigbleibenden Doppelbindungsäquivalente ein pentazyklisches Triterpen angenommen werden.

Die anschließenden Untersuchungen von verschiedenen Derivaten sollen die Bestätigung dieser Überlegungen erbringen.

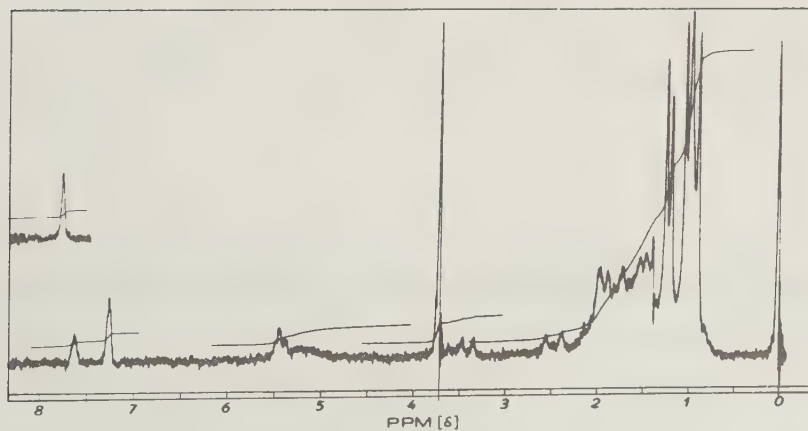
4.2.3. Synthese und spektroskopische Untersuchung des Methyl- esters.

Weitere Klarheit über die Struktur der Verbindung Sn-1, insbesondere die Sicherung der vermuteten Säurefunktion, sollte die Methylierung mit Diazomethan bringen. Die Reaktion gelang und lieferte nach anschließender säulenchromatographischer Reinigung weiß-glänzende Kristallplättchen (Arbeitsvorschrift und Stoffeigenschaften im Versuchsteil) vom Schmelzpunkt 167-168° C.

Aus dem Ergebnis der Elementaranalyse (Gef.: C 78.9 %, H 10.9 % Berechn.: C 79.1 %, H 10.7 %) läßt sich die Summenformel $C_{31}H_{50}O_3$ ableiten. Das Molekulargewicht (470.7) wird durch das Massenspektrum (s. Figur 14) bestätigt. Es muß sich bei dem Methylprodukt von Sn-1 also um einen Mono-Methylester handeln. Daß daneben eine weitere, mit Diazomethan nicht methylierbare OH-Gruppe vorliegen dürfte, verrät sich durch Wasserabspaltung aus dem Molekülpeak ($M^+ - 18 = m/e 452$).

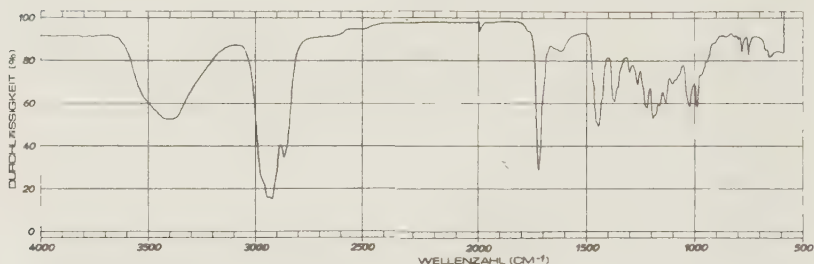


Figur 14: Massenspektrum der Verbindung Sn-1-methyliert.



Figur 15: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-1-methyliert
(60 MHz, Pyridin).

Das NMR-Spektrum (s. Figur 15) zeigt durch ein drei Protonen entsprechendes Signal bei 3.75 ppm (δ) das Vorliegen einer Methylgruppe an.



Figur 16: IR-Spektrum der Verbindung Sn-1-methyliert.

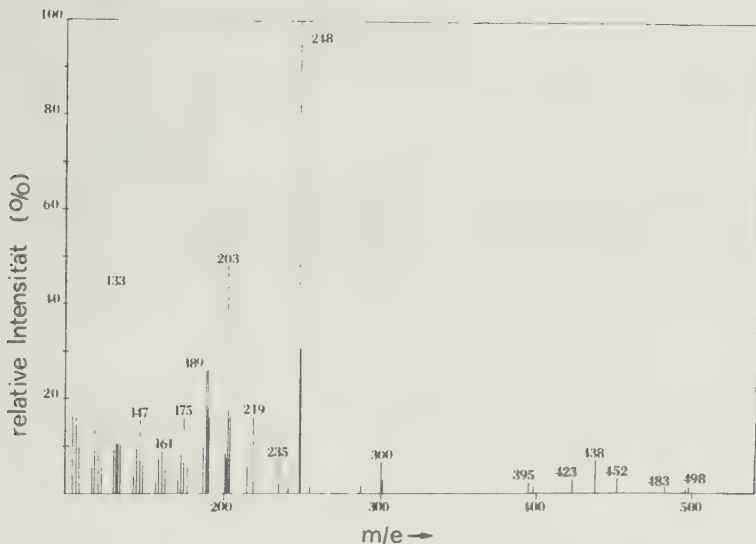
Im IR-Spektrum (s. Figur 16) ist die breite Säurebande zwischen 2500 und 3500 cm^{-1} verschwunden. Die Absorption bei 1705 cm^{-1} ist nach 1720 cm^{-1} verlagert. Beides spricht für eine erfolgte Methylierung.

Ergebnis: Die spektroskopische Untersuchung des Methylderivates von Sn-1 bestätigt das Vorliegen einer Säurefunktion und gibt einen deutlichen Hinweis auf eine aliphatische Alkoholgruppe.

4.2.4. Synthese und spektroskopische Untersuchung des Acetates.

Acetylierung von Sn-1 mit Acetanhydrid/Pyridin lieferte derbe, durscheinende, prismatische Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 284–289 °C (Arbeitsvorschrift und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

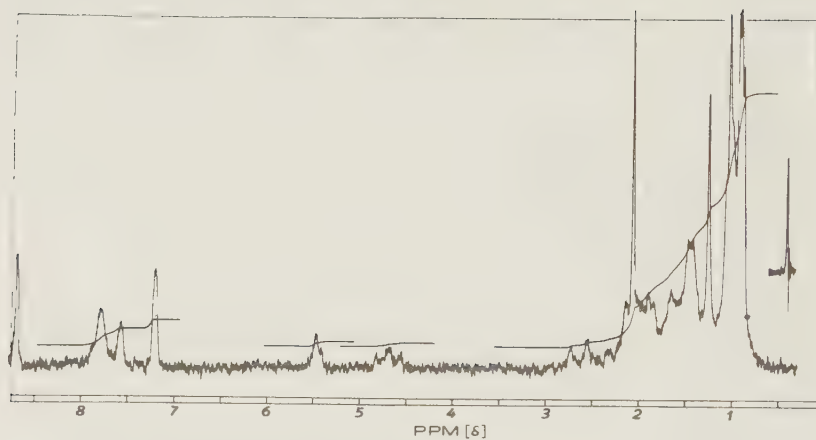
Die Elementaranalyse (Gef.: C 76.8 %, H 10.0 %. Berechn.: C 77.1 %, H 10.1 %), die einer Summenformel $C_{32}H_{48}O_4$ (498.8) entspricht und das Massenspektrum ($M^+ = m/e$ 498, s. Figur 17) bestätigten das Vorliegen eines Monoacetats als Ergebnis der Umsetzung.



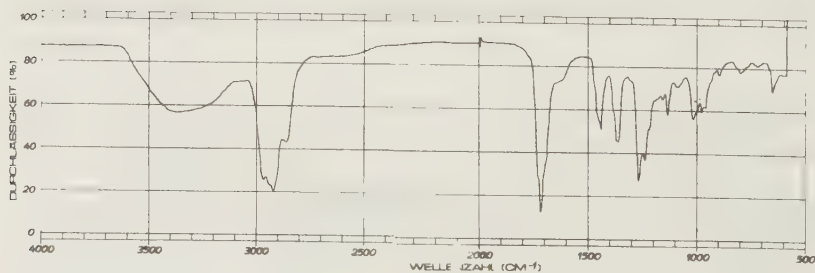
Figur 17: Massenspektrum der Verbindung Sn-1-acetyliert.

Im NMR-Spektrum (s. Figur 18) findet sich ein, einer Acetylgruppe entsprechendes Singulett bei 2.0 ppm (δ). Das IR-Spektrum (s. Figur 19) zeigt die für Acetate typischen Streckschwingungen bei 1720 und 1240 cm^{-1} .

Ergebnis: Das Vorliegen einer aliphatischen Alkoholgruppe wird durch die Umsetzung zum Acetat bewiesen.



Figur 18: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-1-acetyliert
(60 MHz, Pyridin).



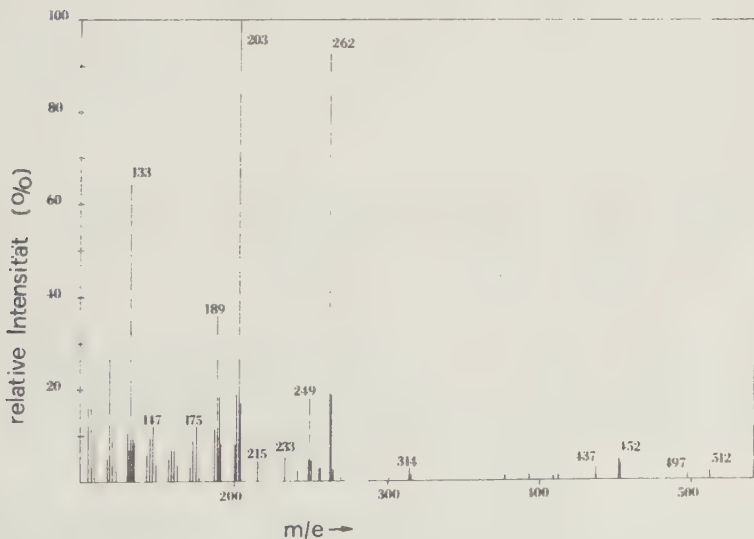
Figur 19: IR-Spektrum der Verbindung Sn-1-acetyliert.

4.2.5. Synthese und spektroskopische Untersuchungen des acetylierten Methylesters.

Acetylierung des Methylproduktes von Sn-1 mit Acetanhydrid/Pyridin ergab feine, weiße Kristallnadeln vom Schmelzpunkt 243-245°C (Arbeitsvorschrift und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

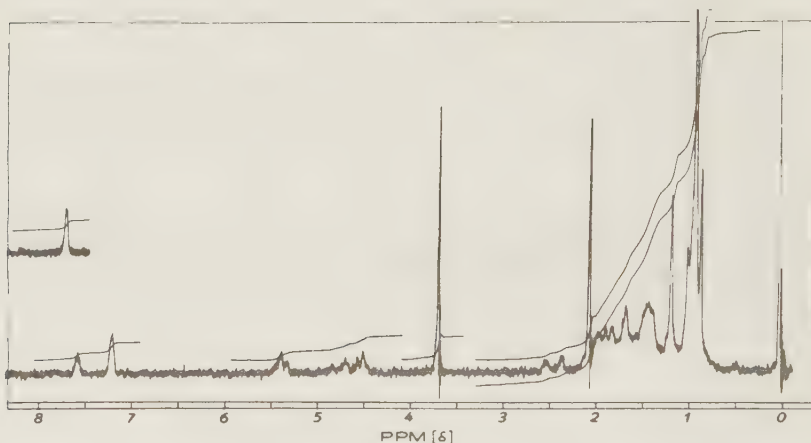
Ihre spektroskopische Prüfung und das Ergebnis der Elementaranalyse (Gef.: C 77.5 %, H 10.2 %. Berechn.: C 77.3 %, H 10.2) bekräftigten die Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen.

Die Summenformel $C_{33}H_{52}O_4$ (512.8) wurde durch den Molekülpeak (m/e 512) des Massenspektrums (s. Figur 20) bestätigt. Weitere deutliche Peaks sind daneben $M^+ - 59$ (m/e 453) und $M^+ - 60$ (m/e 452), die einer Methylester- und einer O-Acetat-Abspaltung entsprechen.



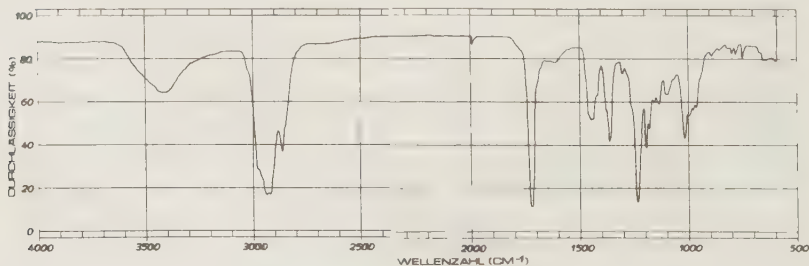
Figur 20: Massenspektrum der Verbindung Sn-1-methyliert-acetyliert.

Das NMR-Spektrum (s. Figur 21) zeigt die zwei, je drei Protonen entsprechenden Singulets der Methyl- und der Acetatgruppe bei 3.7 und 2.05 ppm (δ). Unverändert das Signal des Vinylprotons bei 5.5 ppm (δ).



Figur 21: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-1-methyliert-acetyliert (60 MHz, Pyridin).

Im IR-Spektrum (s. Figur 22) finden sich ausgeprägte Streck-schwingungen bei 1720, 1235 und 1195 cm^{-1} .



Figur 22: IR-Spektrum der Verbindung Sn-1-methyliert-acetyliert.

Ergebnis: Der erneute Beweis für je eine Säure- und Alkoholgruppe wurde erbracht.

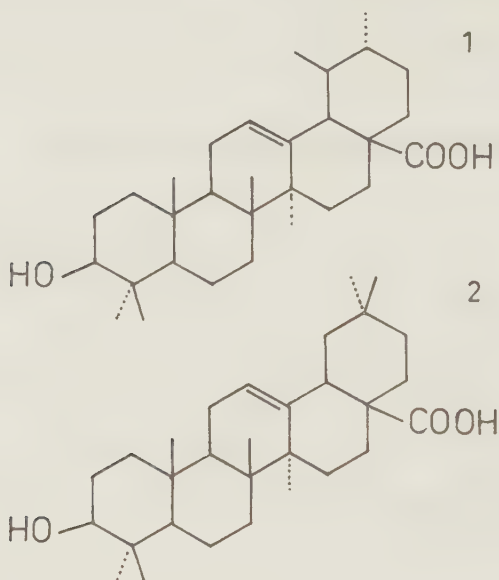
4.2.6. Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse.

Die bisherigen Untersuchungen lassen folgende Schlüsse zu:

1. Bei der Substanz Sn-1 handelt es sich um ein Triterpen (LIEBERMANN-BURCHARD-Reaktion; Elementaranalyse).
2. Sn-1 besitzt drei O-Atome. Diese verteilen sich auf eine Säurefunktion und eine acetylierbare, d.h. primäre oder sekundäre Alkoholgruppe.
3. Unter Berücksichtigung der errechenbaren Doppelbindungsäquivalente (s.o.) muß Sn-1 demnach der Reihe der pentacyklischen Triterpene zugeordnet werden.
4. Bei DEVON und SCOTT [69] finden sich nicht weniger als 18 Triterpene mit der festgestellten Summenformel und je einer Alko- und einer Säuregruppe. Der Vergleich der in der Literatur angegebenen Schmelzpunkte und der optischen Drehungen mit den für Sn-1 gefundenen Werten zeigte jedoch eine weitgehende Übereinstimmung mit der U r s o l s ä u r e (s. Figur 23), einer stereoisomeren Verbindung der bekannten O l e a n o l s ä u r e .
5. Als nächster Schritt zur Identifizierung von Sn-1 wurde deshalb der direkte Vergleich mit Ursolsäure angestrebt.

4.2.7. Isolierung von Ursolsäure aus Arctostaphylos uva-ursi als Vergleichssubstanz.

Da authentische Ursolsäure nicht zur Verfügung stand, wurde sie aus den Blättern von Arctostaphylos uva-ursi (Bärentraubenblätter) isoliert. Dabei wurde nicht das Verfahren von



Figur 23: Ursolsäure (1) und Oleanolsäure (2).

TROMMSDORF [70] angewendet, der aus dieser Pflanze als Erster Ursolsäure gewonnen hatte, sondern weitgehendst nach der in Kapitel 4.1. beschriebenen Weise vorgegangen: Der Toluolextrakt wurde mit verschiedenen Fließmitteln über Kieselgur eluiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung wurde aus dem Äthylacetat-Eluat nach zweimaligem Umkristallisieren der reine Stoff in Form feiner Kristallnadelchen erhalten (Arbeitsvorschrift und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

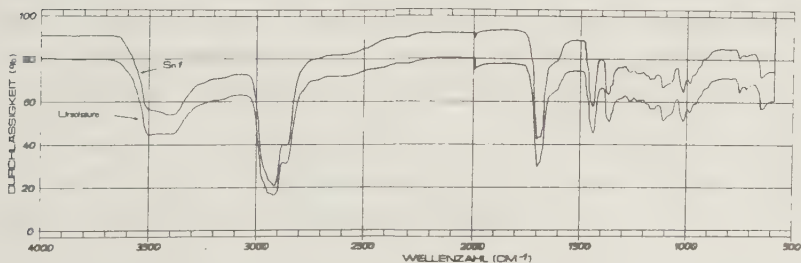
4.2.8. Mischschmelzpunkt, DC-Vergleich und IR-Überlagerungs- spektrum.

Die aus *Arctostaphylos uva-ursi* isolierte Ursolsäure erwies sich mit der Substanz Sn-1 als identisch. Der Mischschmelzpunkt (Mettler-Heiztischmikroskop) ergab keine Depression (s.

Schmelzpunkt Sn-1:	285-286° C
Schmelzpunkt Ursolsäure aus <i>A. uva-ursi</i> :	285-287° C
Mischschmelzpunkt:	284-287° C

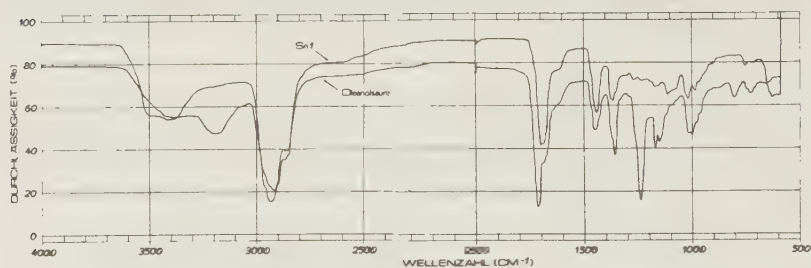
Figur 24.

Figur 24). Im DC-Vergleich konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Auch Massenspektrum, NMR-Spektrum und IR-Spektrum waren deckungsgleich. Figur 25 zeigt das in allen Einzel-



Figur 25: IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung Sn-1 mit Ursolsäure.

heiten übereinstimmende IR-Überlagerungsspektrum. Überlagerung mit Oleanolsäure, die sich lediglich durch die Stellung einer Methylgruppe von der Ursolsäure unterscheidet, wies dagegen



Figur 26: IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung Sn-1 mit Oleanolsäure.

gravierende Unterschiede vor allem im Bereich von ca. 1000 bis 1400 cm⁻¹ auf (s. Figur 26).

Die Identität von Sn-1 als Ursolsäure (= 3 β -Hydroxy-ursan-12-en-28-carbonsäure; s. Figur 23) ist damit bewiesen.

4.3. Identifizierung der Substanz Sn-2.

4.3.1. Voruntersuchungen.

Die Substanz Sn-2 reagiert ebenfalls nach LIEBERMANN-BURCHARD positiv, was sich als ein Hinweis auf Vorliegen eines der Substanz Sn-1 (d.h. der Ursolsäure) verwandten Begleitterpens deuten läßt.

Sn-2 besitzt nach der Elementaranalyse (Gef.: C 75.8 %, H 10.1 %. Berechn.: C 76.2 %, H 10.2 %) die Summenformel $C_{30}H_{48}O_4$ (Molekulargewicht 472.2; sieben Doppelbindungsäquivalente). Sie enthält also ein O-Atom mehr im Molekül als Sn-1 und ist demnach polarer, was auch im Laufverhalten (s. Figur 10) zum Ausdruck kommt.

Zur weiteren Charakterisierung dienten die Messung der spezifischen Drehung:

$$[\alpha]_D^{20} = +92^{\circ} \quad (c = 0.18, \text{Pyridin})$$

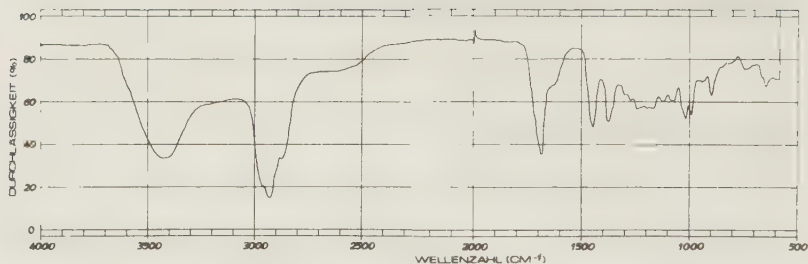
und die Beobachtung des Schmelzverhaltens:

Schmp.: 210-212⁰ C; anschließend verfestigte sich die Probe bei 215⁰ C wieder und schmolz ein weiteres Mal im Bereich von 290-298⁰ C. Eine in Siligel eingebettete Substanzmenge zeigte bei ca. 190-210⁰ C Bläschenbildung und deutete damit auf Wasserabspaltung hin.

4.3.2. Spektroskopische Untersuchungen.

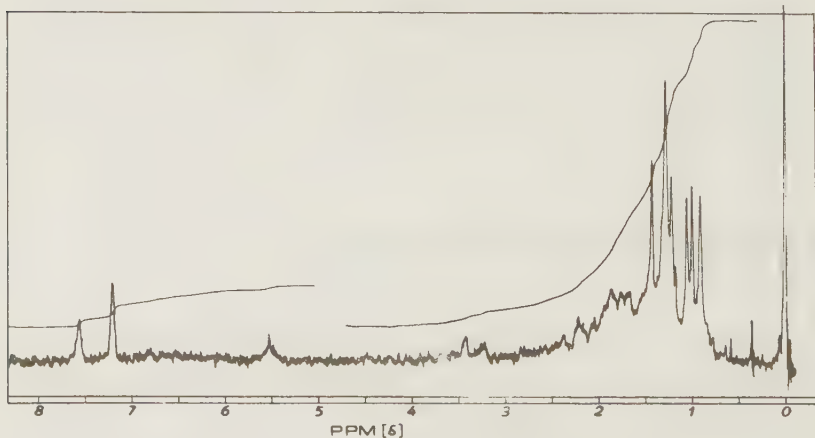
Aufgenommen wurden IR-, NMR- und Massenspektrum. Im ultravioletten Bereich zeigte die Substanz Sn-2 ebenso wie Sn-1 keine Absorption und damit auch kein aromatisches Verhalten; andere chromophore Systeme schließen sich natürlich ebenfalls aus.

Das IR-Spektrum (s. Figur 27) weist große Ähnlichkeiten mit



Figur 27: IR-Spektrum der Verbindung Sn-2.

dem Spektrum von Sn-1 auf (s. Figur 11). Beherrschend auch hier die breite Bande an Streckschwingungen zwischen ca. 2500 und 3500 cm^{-1} , die ein deutlicher Hinweis auf Carbonsäuren ist. Im Bereich der Absorptionsfrequenzen von Doppelbindungen liegt eine starke Bande knapp unter 1700 cm^{-1} , also geringfügig tiefer als ihr Gegenstück bei Sn-1. Auch sie weist auf Carbonsäuren hin. Für die Absorption bei ca. 3400 cm^{-1} gilt das für das Spektrum von Sn-1 Gesagte (s. dort).

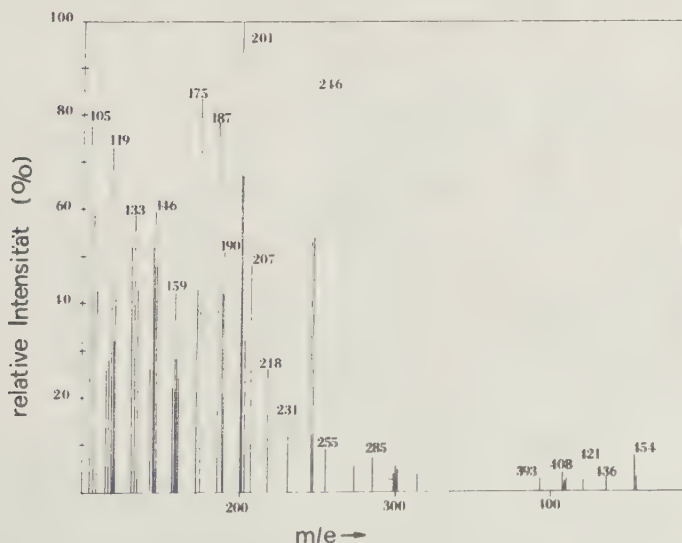


Figur 28: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-2
(60 MHz, Pyridin).

Die auffallenden Banden bei ca. 2950 und ca. 2870 cm^{-1} (CH-Valenzschwingungen) und bei ca. 1450 und 1380 cm^{-1} (CH-Deformationsschwingungen) müssen wiederum CH_3 - und $-\text{CH}_2$ -Gruppierungen zugerechnet werden.

Auch das NMR-Spektrum (s. Figur 28) ist der entsprechenden Aufnahme der Substanz Sn-1 recht ähnlich. Die tieferen Frequenzen (0.8-1.5 ppm (δ)) zeigen aber eine viel deutlichere Aufspaltung. Mit ziemlicher Sicherheit können sieben Methylgruppen unterschieden werden. Ein kaum aufgespaltenes Multiplett eines einzelnen Protons findet sich auch hier bei 5.45 ppm (δ). Nur schwach ausgeprägt und ohne eine eindeutige Aussage zuzulassen liegen zwei weitere Signale bei 3.2 und 3.5 ppm (δ).

Das Massenspektrum (s. Figur 29) scheint zu den Ergebnissen der Elementaranalyse aufs erste besehen im Widerspruch, da der Peak mit der höchsten Massenzahl bei m/e 454 liegt. Erwar-

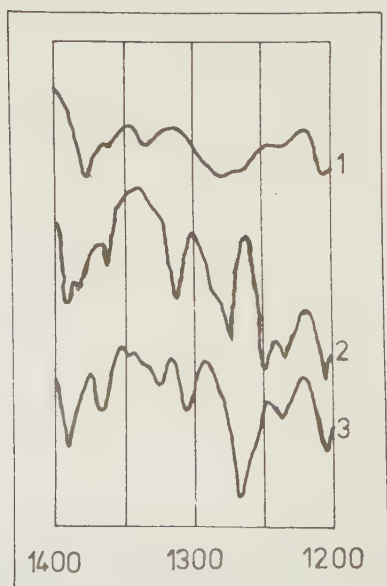


Figur 29: Massenspektrum der Verbindung Sn-2.

tet wurde ein Molekülpeak von m/e 472. Die anzunehmende Massendifferenz von 18 Masseeeinheiten und das vermutliche Fehlen des eigentlichen Molekülions könnte nach SEIBL [71] auf einen tertiären Alkohol hinweisen, bei denen häufig der Molekülpeak ganz fehlt.

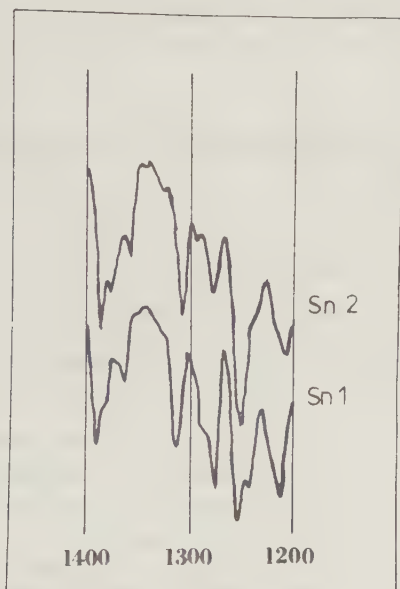
Die deutlichen Peaks bei m/e 436, 421 und 408 bieten das Fragmentierungsmuster von Alkoholen, allerdings von m/e 454 ausgehend, nicht vom hypothetischen m/e 472.

Die weitgehende Übereinstimmung der Spektren weist auf die große Ähnlichkeit der Verbindungen Sn-1 und Sn-2 hin. Um aber Sn-2 endgültig dem Ursolsäure-Typ zuordnen zu können, wurde das Verfahren von SNATZKE, LAMPERT und TSCHESCHE [72] angewandt. Dieses besteht in dem Vergleich charakteristischer Ab-



Figur 30: IR-Banden verschiedener Triterpen-Grundtypen zwischen 1200 und 1400 cm^{-1} : 1 = Tumulossäure, 2 = Ursolsäure, 3 = Oleanolsäure [72].

sorptionsbanden der in Pyridin gelösten Substanzen im infraroten Bereich (s. Figur 30). Die für die Zuordnung relevanten Banden liegen zwischen 1250 und 1400 cm^{-1} und erlauben eine eindeutige Unterscheidung der wichtigsten Triterpentypen. Im vorliegenden Fall zeigten die Verbindung Sn-2 und Ursolsäure eine überzeugende Übereinstimmung (s. Figur 31).



Figur 31: Vergleich der IR-Banden von Sn-2 und Ursolsäure (Sn-1) im Bereich von 1200 - 1400 cm^{-1} (Pyridin).

Zusammenfassung:

1. Die Zugehörigkeit der Substanz Sn-2 zur Ursolsäurereihe wurde gesichert (Vergleich charakteristischer IR-Banden nach SNATZKE, LAMPERT und TSCHESCHE [72]).
2. Im Unterschied zur Substanz Sn-1 besitzt Sn-2 ein zusätz-

liches O-Atom (vgl. Elementaranalyse) und damit verbunden ein polareres Verhalten in der DC (s. Figur 10).

3. Die Interpretation des Massenspektrums gibt einen deutlichen Hinweis auf einen tertiären Alkohol. Die Annahme bietet sich an, daß das zusätzliche O-Atom Bestandteil dieses Hydroxyls sein könnte.

4. Die nachfolgend beschriebene Synthese verschiedener Derivate soll weitere Ergebnisse bringen, die insbesondere die Lokalisierung der zusätzlichen OH-Gruppe ermöglichen sollen.

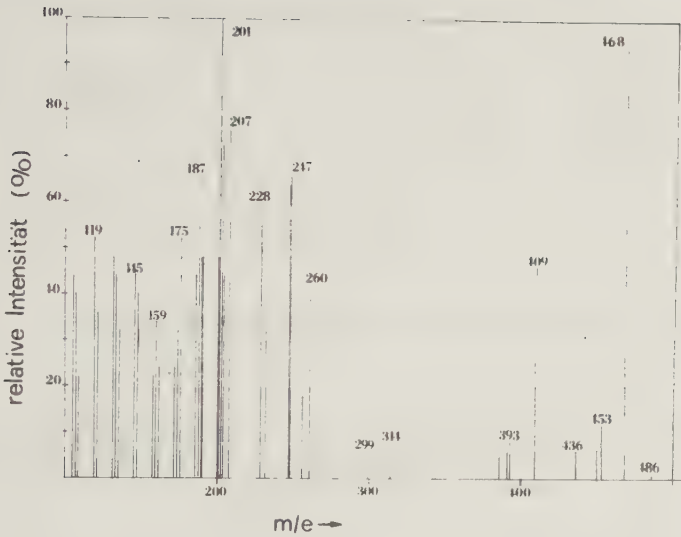
4.3.3. Synthese und spektroskopische Untersuchung des Methyl-derivates.

Methylierung mit Diazomethan lieferte nach der säulenchromatographischen Reinigung weiße, kräftige Kristallnadeln vom Schmelzpunkt $209-211^{\circ}\text{C}$ (Arbeitsvorschrift und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

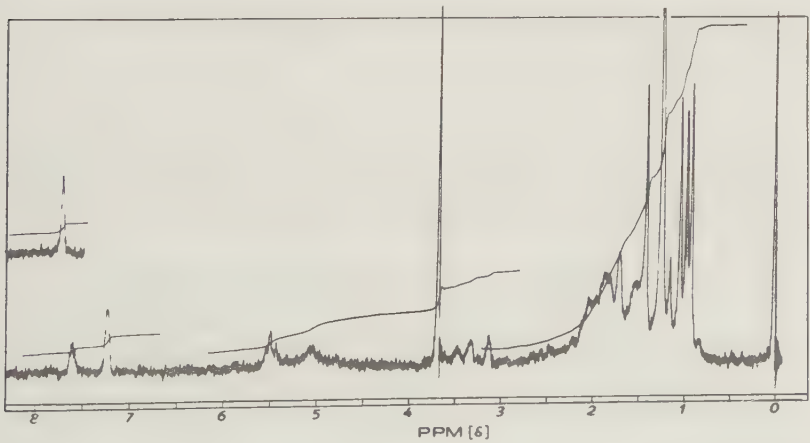
Aus dem Ergebnis der Elementaranalyse (Gef.: C 76.2 %, H 10.2 % Berechn.: C 76.5 %, H 10.4 %) läßt sich die Summenformel $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_4$ ableiten. Das Molekulargewicht (486.7) wird durch das Massenspektrum (s. Figur 32) bestätigt. Der Molekülpeak (m/e 486) ist nur sehr schwach ausgeprägt. $\text{M}^+ - 18$ (m/e 468) dagegen ist der zweitstärkste Peak des ganzen Spektrums überhaupt. $\text{M}^+ - 77$ (m/e 409 = $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{COOCH}_3$) tritt ebenfalls sehr deutlich auf.

Das NMR-Spektrum (s. Figur 33) zeigt bei 3.7 ppm (δ) das erwartete Singulett der Carbomethoxy-Gruppe. Ein mit D_2O austauschbares Singulett liegt bei 5.05 ppm (δ).

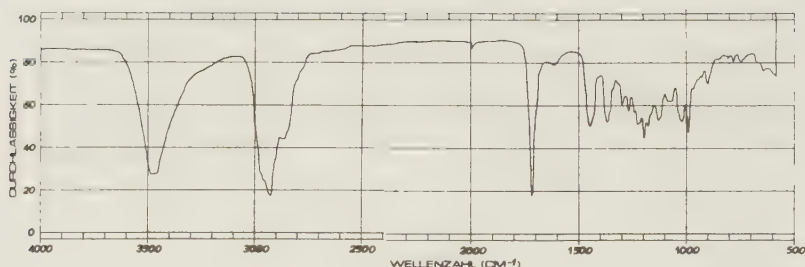
Auch das IR-Spektrum (s. Figur 34) bekräftigt vor allem die erfolgte Methylierung. Die Säurebande zwischen 2500 und 3500 cm^{-1} ist verschwunden. Die Carbonyl-Absorption bei 1685 cm^{-1} ist nach 1715 cm^{-1} verschoben.



Figur 32: Massenspektrum der Verbindung Sn-2-methyliert.



Figur 33: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-2-methyliert
(60 MHz, Pyridin).



Figur 34: IR-Spektrum der Verbindung Sn-2-methyliert.

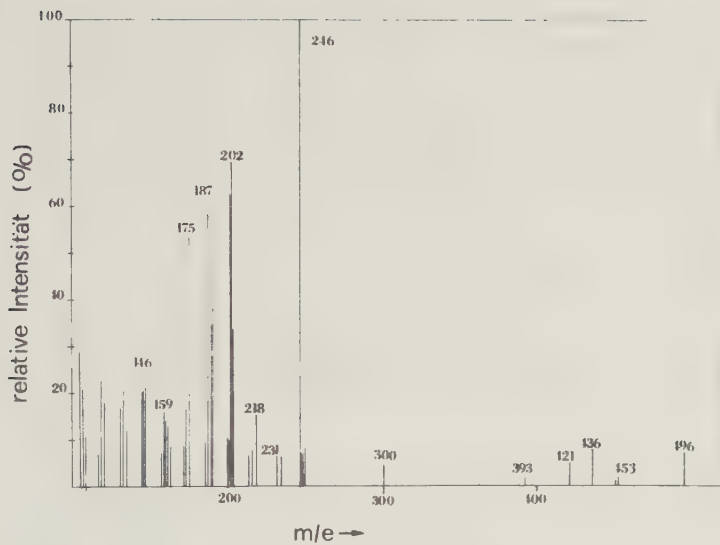
Ergebnis: Sn-2 bildet wie erwartet das Monomethylat. Der dieses Mal mit dem Ergebnis der Elementaranalyse übereinstimmende Molekülpeak im Massenspektrum beseitigt den nach der Untersuchung des unmethylierten Sn-2 aufgetretenen Widerspruch zwischen Elementaranalyse und Massenspektrum.

4.3.4. Synthese und spektroskopische Untersuchung des Acetats.

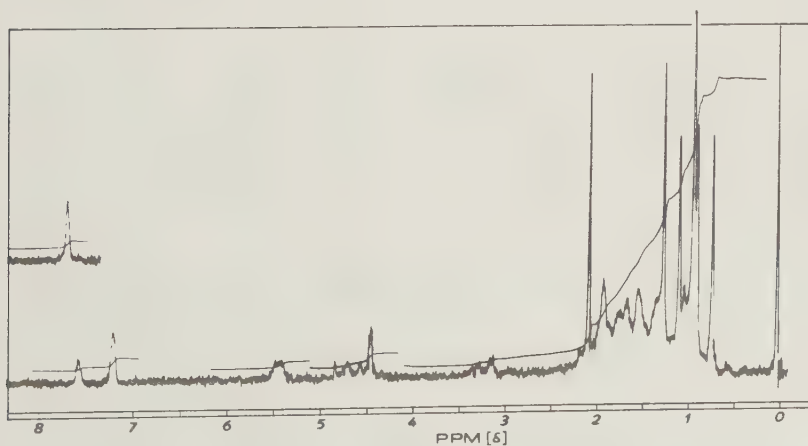
Acetylierung von Sn-2 mit Acetanhydrid/Pyridin lieferte durchscheinende, unregelmäßige Kristallplättchen vom Schmelzpunkt $284-290^{\circ}\text{C}$ (Arbeitsanleitung und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

Die Elementaranalyse (Gef.: C 76.9 %, H 9.7 %, Berechn.: C 77.4 %, H 9.7 %) ergab die Summenformel $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_4$. Die zu dieser Formel gehörige Masse wird durch das Massenspektrum (s. Figur 35) bestätigt. M^+ (m/e 496) und der einer Acetatabspaltung entsprechende $\text{M}^+ - 60$ (m/e 436) sind deutlich zu erkennen.

Dennoch ist dieses Ergebnis nicht ganz einfach zu interpretieren. Zweifelsohne wurde nur eine der beiden Alkoholgruppen



Figur 35: Massenspektrum der Verbindung Sn-2-acetyliert.



Figur 36: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-2-acetyliert
(60 MHz, Pyridin).

erfolgreich acetyliert. Tertiäre OH-Gruppen bleiben, zumindest unter den obigen Bedingungen, unverändert. Der Verdacht auf ein tertiäres Hydroxyl erhärtet sich also. Der Molekülpeak müßte dann, bei einer acetylierten und bei einer nicht acetylierten OH-Gruppe, bei m/e 514 liegen, könnte allerdings auch, wie bei der Substanz Sn-2 selbst, völlig fehlen.

Dem widerspricht, daß die Elementaranalyse in diesem Falle das Ergebnis $C_{32}H_{50}O_5$ erzielen müßte, tatsächlich aber zwei H-Atome und ein O-Atom weniger aufzeigt. Als einziger Schluß bietet sich an: Sn-2 besitzt neben der schon von der Ursolsäure bekannten, acetylierbaren OH-Gruppe ein zweites, sehr empfindliches, tertiäres Hydroxyl, das bereits unter den bei der Acetylierungsreaktion auftretenden stark sauren Bedingungen eliminiert wird.

Ein einzelnes Methylsignal bei 2.05 ppm (δ) bestätigt im NMR-Spektrum (s. Figur 36) das Vorliegen eines Monoacetats. Das der Acetylgruppe benachbarte Proton erscheint bei 4.7 ppm. Ein mit D_2O austauschbares Singulett liegt bei 4.5 ppm (δ). Das IR-Spektrum (s. Figur 37) bringt die mögliche Erklärung für die leichte Eliminierbarkeit der tertiären OH-Gruppe. Die breite Säurebande zwischen 2500 und 3500 cm^{-1} ist verschwun-



Figur 37: IR-Spektrum der Verbindung Sn-2-acetyliert.

den. Die ausgeprägte Carbonylbande, ursprünglich bei 1685 cm^{-1} als Hinweis auf Säuren gewertet, ist in den Bereich relativ höherer Energie nach 1730 cm^{-1} gewandert. Die Annahme, daß Säure- und Alkoholgruppe einen inneren Ester gebildet haben,

liegt nahe.

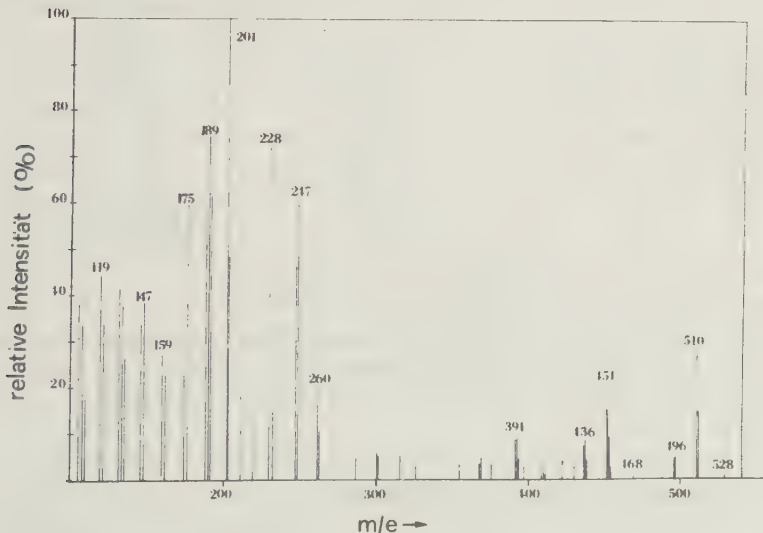
Ergebnis:

1. Sn-2 bildet ein Monoacetat.
2. Die hypothetische tertiäre OH-Gruppe reagiert möglicherweise mit der Säuregruppierung. Ihre Lage innerhalb des Moleküls wäre dadurch stark eingegrenzt.

4.3.5. Synthese und spektroskopische Untersuchungen des acetylierten Methylesters.

Acetylierung des Methylesters von Sn-2 mit Acetanhydrid/Pyridin lieferte feine, weiße Kristallplättchen vom Schmelzpunkt 204-207° C (Arbeitsanleitung und Stoffeigenschaften im Versuchsteil).

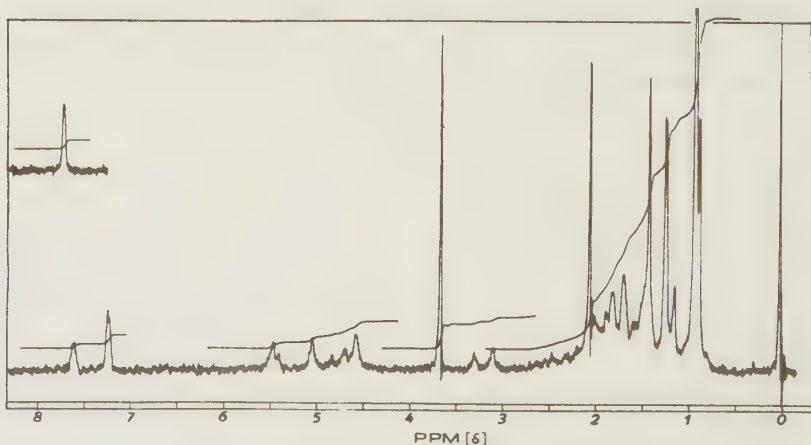
Das Ergebnis der Elementaranalyse (Gef.: C 74.5 %, H 9.8 %.



Figur 38: Massenspektrum der Verbindung "Sn-2-methyliert-acetyliert".

Berechn. C 74.9 %, H 9.9 %), das einer Summenformel $C_{33}H_{52}O_5$ (528.8) entspricht, deckt sich mit dem erwarteten Resultat, d.h., der erfolgten Acetylierung der sekundären OH-Gruppe und dem, wenn auch wieder nur sehr schwachem, Signal des Moleküls im Massenspektrum (siehe Figur 38). Abspaltung der Methylestergruppierung (m/e 496) und des Acetats (m/e 468) sind gut erkennbar. Von größerer Intensität ist m/e 510 ($= M^+ - 18$, Wasserabspaltung).

Das NMR-Spektrum (siehe Figur 39) zeigt ein dem Methylester zugehöriges Signal bei 3.7 ppm (δ) und ein dem Acetylrest zuzuordnendes Singulett bei 2.05 ppm (δ). Das Vinylproton liegt wie immer bei 5.45 ppm (δ). Das der Acetylgruppe benachbarte Proton erscheint als Triplett bei 4.7 ppm (δ). Ein mit D_2O austauschbares, etwas verbreitertes Singulett liegt bei 5.05 ppm (δ). Unklar bleibt, wie zwei Signale bei 3.1 und 3.3 ppm (δ) zu interpretieren sind.



Figur 39: NMR-Spektrum der Verbindung „Sn-2-methyliert-acetyliert“ (60 MHz, Pyridin).

Auffallendstes Signal im IR-Spektrum (siehe Figur 4a) sind die Carbonylbanden der Ester bei 1720 und 1240 cm^{-1} , sowie die CH-Valenzschwingungen zwischen ca. 3050 und 2800 cm^{-1} .



Figur 4a: IR-Spektrum der Verbindung „Sn-2-methyliert-acetyliert“.

Ergebnis: Bei der Acetylierung der Verbindung Sn-2 fand unter den dabei benötigten stark sauren Bedingungen als Nebenreaktion H_2O -Abspaltung statt. Bei der Acetylierung der Substanz „Sn-2-methyliert“ dagegen kann eine gleich Beobachtung nicht gemacht werden. Offensichtlich hat die Veresterung der Carboxylgruppe eine entsprechende Reaktion verhindert. Damit ist bewiesen, daß, Übereinstimmend mit dem Ergebnis von Kapitel 4.3.4., die Säuregruppe tatsächlich an der Wasserabspaltung beteiligt war und somit in räumlicher Nähe zu dem angenommenen tertiären Hydroxyl stehen muß.

4.3.6. Synthese und spektroskopische Untersuchung des Laktons.

Eine Reihe der im Vorhergehenden beschriebenen Beobachtungen (Hinweis auf tertiären Alkohol im Massenspektrum von „Sn-2-methyliert“ und „Sn-2-methyliert-acetyliert“. H_2O -Abspaltung während der Acetylierung; dabei Eliminierung der Säurebanden

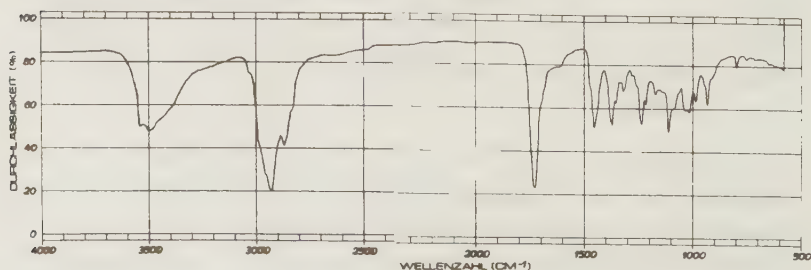
im IR-Spektrum) sprechen dafür, daß es sich bei Sn-2 um eine Hydroxy-Triterpensäure handeln könne, die unter relativ milden Bedingungen innermolekular zum korrespondierenden Lakton dehydratisiert. Wegen der Bedeutung dieser innermolekularen Esterbildung für die Konstitution und zugleich die relative Konfiguration wurde das Lakton H^+ -katalytisch hergestellt und beschrieben. Die nämliche Substanz (siehe Figur 41) wird bereits beim Erhitzen über den Schmelzpunkt hergestellt (Arbeitsanleitung und Stoffeigenschaften siehe im Versuchsteil).

hergestellt durch:
 H^+ -Katalyse Erhitz. über d. Schmp.

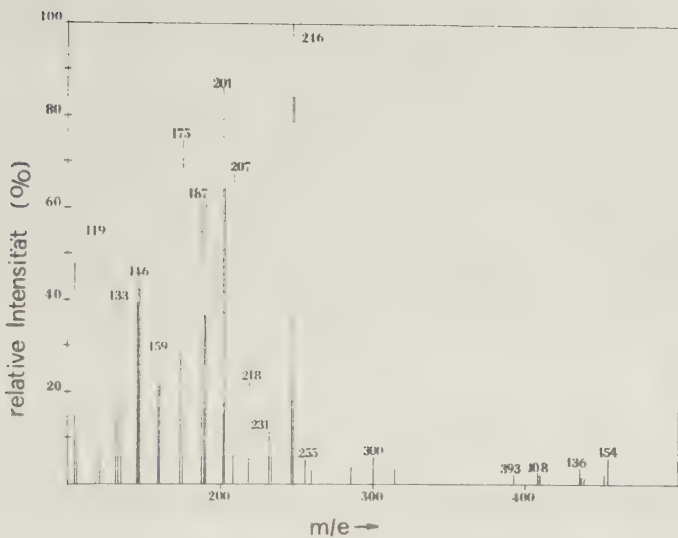
Schmelzpunkt (Zers.)	278-292° C	280-292° C
Rf-W. (Kieselgel, Toluol/Aceton 7:3)	0.61	0.61
Rf-W. (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 95:5)	0.65	0.65

Figur 41: Identische Eigenschaften des auf zwei verschiedenen Wegen hergestellten „Sn-2-laktonisiert“.

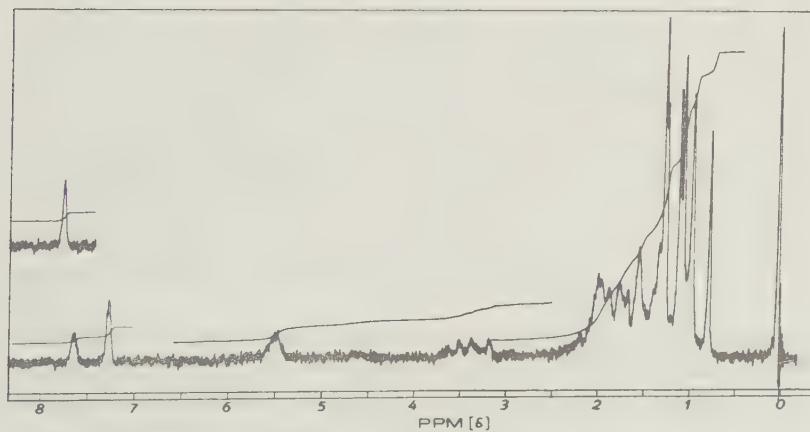
Die Elementaranalyse (Gef.: C 79.0 %, H 10.2 %. Berechn.: C 79.2 %, H 10.2 %) bestätigt die Abspaltung eines Moleküls Wasser durch die Summenformel $C_{30}H_{46}O_3$ (454.7).



Figur 42: IR-Spektrum der Verbindung „Sn-2-laktonisiert“.



Figur 43: Massenspektrum der Verbindung „Sn-2-laktonisiert“.



Figur 44: NMR-Spektrum der Verbindung „Sn-2-laktonisiert“
(60 MHz, Pyridin).

Das IR-Spektrum (siehe Figur 42) zeigt das Verschwinden der Säurebande zwischen 2500 und 3500 cm^{-1} und die von 1685 nach 1730 cm^{-1} versetzte Carbonylbande.

Das Massenspektrum (siehe Figur 43) stimmt mit dem Ergebnis der Elementaranalyse überein. M^+ (m/e 454) und $M^+ - 18$ (m/e 436) sind die beiden höchsten Peaks von Bedeutung.

Das NMR-Spektrum (siehe Figur 44) zeigt entsprechend der einfacher gebauten Formel außerhalb des Methylgruppenbereichs nur das Signal des Vinylprotons bei 5.5 ppm (δ) und das Triplett des der sekundären OH-Gruppe benachbarten Wasserstoffs bei 3.4 ppm (δ).

4.3.7. ^1H -NMR-spektroskopischer Nachweis der Alkoholgruppen.

Die bisherigen Untersuchungen lassen die Folgerung zu, daß die Substanz Sn-2 zwei Alkoholgruppen, eine sekundäre und eine tertiäre, besitzt. Durch die Aufnahme von ^1H -NMR-Spektren sollte es gelingen, beide eindeutig nachzuweisen. Es wurde versucht, dieses Ziel auf zwei Wegen zu erreichen: durch die Verwendung von Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel und durch die Derivatbildung mit Trichloracetylisocyanat.

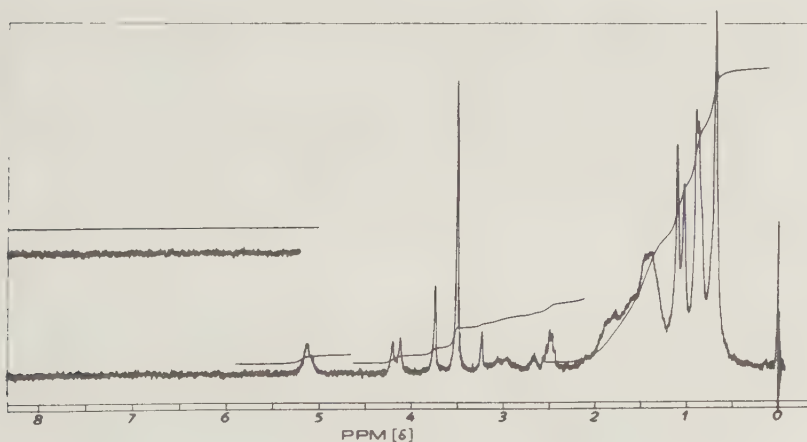
Die Identifizierung und Beurteilung von OH-Signalen birgt eine Reihe von Schwierigkeiten, die hauptsächlich durch ihre Konzentrations-, Temperatur- und Lösungsmittelabhängigkeit, sowie durch ihre Säureempfindlichkeit und die nicht immer scharf ausgeprägten Banden verursacht werden. Als allgemeine Regel gilt, daß alkoholische OH-Resonanzen zwischen 0.5 und 5.5 ppm (δ) erwartet werden können.

Eine Unterscheidung zwischen primären, sekundären und tertiären Alkoholen ist bei der Spektrenaufnahme in Dimethylsulfoxid (DMSO) möglich. In diesem Lösungsmittel ist die Austauschgeschwindigkeit von Hydroxylprotonen soweit verlangsamt, daß die Kopplungen der Hydroxylprotonen von Alkoholen mit den Protonen am α -C-Atom sichtbar werden. Tertiäre Alkohole erscheinen somit als Singuletts, sekundäre als Doubletts und

primäre entsprechend als Triplets.

Figur 45 zeigt das in DMSO aufgenommene Spektrum der Verbindung „Sn-2-methyliert“, das drei nach dem Zusatz des Alkoholreagens Trichloracetylisocyanat (siehe unten) verschwindende Signale aufweist:

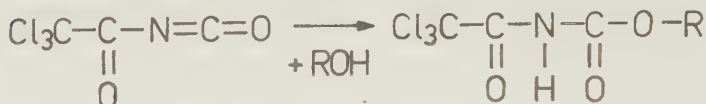
1. Ein Doublett bei 4.16 ppm (δ), das einem sekundären Alkohol entspricht.
2. Ein Singulett bei 3.74 ppm (δ), das einen tertiären Alkohol anzeigt.
3. Ein Singulett bei 3.25 ppm (δ), verursacht durch eine geringe Menge Wasser im Lösungsmittel.



Figur 45: NMR-Spektrum der Verbindung „Sn-2-methyliert“ (60 MHz, DMSO).

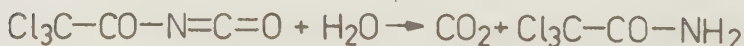
Die Umsetzung von Alkoholen mit Trichloracetylisocyanat (TAI) bietet eine Reihe von Vorteilen (vergleiche GOODLETT [73]):

1. TAI bildet auf der in Figur 46 gezeigten Weise sogar mit sterisch stark behinderten alkoholischen Gruppen in kurzer Zeit ein Derivat. TAI weist dabei keine eigenen NMR-Signale auf. Es kann zudem in situ angewendet werden, d.h., es wird



Figur 46: Umsetzung von Trichloracetylisocyanat mit Alkoholen.

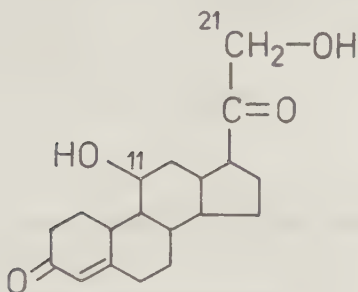
einfach der Probenlösung zum gewünschten Zeitpunkt zugesetzt.
 2. Das gebildete Derivat zeigt ein recht scharfes NH-Einzel-signal im Bereich von 10 ppm (δ). Einfaches Abzählen der Signale in diesem Bereich ergibt die Gesamtzahl der OH-Gruppen.
 3. Wasser stört bei diesen Umsetzungen nicht, da es sich mit TAI zu Kohlendioxid und Trichloracetamid verbindet (siehe Figur 47).



Figur 47: Umsetzung von Trichloracetylisocyanat mit Wasser.

4. Da bei der Reaktion mit TAI auch die in α -Stellung zu Hydroxylgruppen stehenden H-Atome stärker entschirmt werden, ist damit eine leichte Unterscheidungsmöglichkeit zwischen primären, sekundären und tertiären Alkoholen gegeben. Signale von α -H-Atomen primärer Alkohole werden um 0.5 bis 0.9 ppm, von α -H-Atomen sekundärer Alkohole um 1.0 bis 1.5 ppm ins tiefere Feld verschoben. Bei tertiären Alkoholen muß eine entsprechende Beobachtung natürlich fehlen.

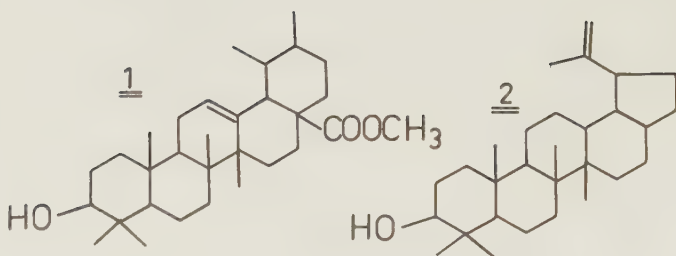
Im Terpenbereich haben TREHAN und MONDER [74] das TAI-Reagens bei Steroidalkoholen angewendet. Sie setzten es z.B. der Verbindung 4-Pregnen-11 β ,21-diol-3,20-dion zu (siehe Figur 48) und konnten dann folgende Beobachtungen machen:



Figur 48: 4-Pregnen-11 β ,21-diol-3,20-dion.

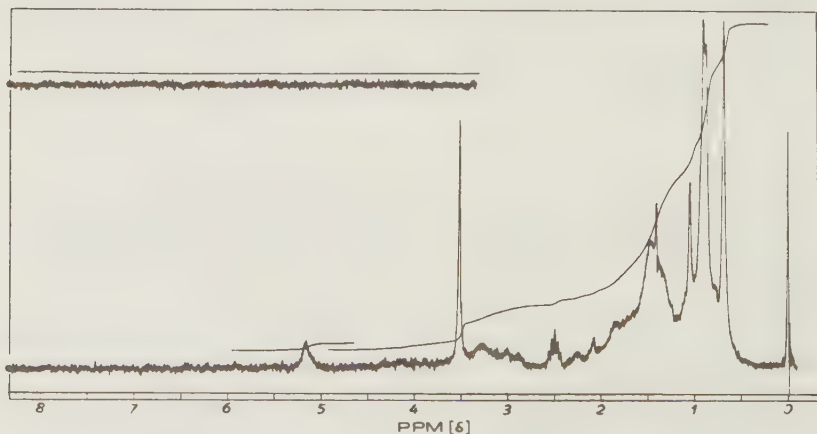
1. Die vorher breiten OH-Signale im Bereich von 4.2 ppm (δ) waren in zwei Singulets bei 9.30 ppm (δ) und 8.85 ppm (δ) umgewandelt.
 2. Die Signale der zu den OH-Gruppen α -ständigen H-Atome waren um die oben angeführten Werte ins tiefere Feld verschoben: Die C-21-Protonen erscheinen, da sie keine benachbarten Protonen besitzen, als scharfes Singulett bei 4.80 ppm (δ). Außerdem beweist noch die Verschiebung um 0.65 ppm und die zwei Protonen ergebende Integration den primären Charakter dieses Alkohols.
- Das ziemlich breite Signal des C-11-Protons bei 4.40 ppm (δ) zeigt durch seine Verschiebung von 1.30 ppm und seine Kopplung mit Nachbarprotonen den sekundären Charakter des C-11-Hydroxyls.

Da sich die Substanz Sn-2 in den von GOODLETT [73] und TREHAN und MONDER [74] vorgeschlagenen Lösungsmitteln Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform zu schlecht löst, wurde versucht, Dimethylsulfoxid (DMSO) als Solvens zu benutzen. Um seine Brauchbarkeit zu erproben, wurden Ursolsäuremethylester und

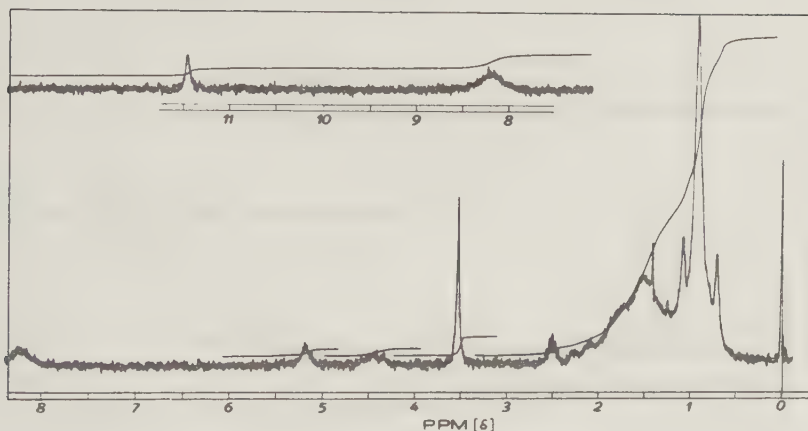


Figur 49: Ursolsäuremethylester (1) und Lupeol (2).

Lupeol (siehe Figur 49) als Testsubstanzen verwendet. Figur 50 zeigt das in DMSO aufgenommene Spektrum des Ursolsäuremethylesters vor Zugabe von TAI: Bei 5.15 ppm (δ) liegt das Signal des Vinylprotons am C-12. Bei 3.25 ppm (δ) findet sich die Bande von Wasser (Verunreinigung), daneben bei 3.0 ppm (δ) das aufgesplittene und breite Signal des zur OH-Gruppe α -ständigen H-Atoms.



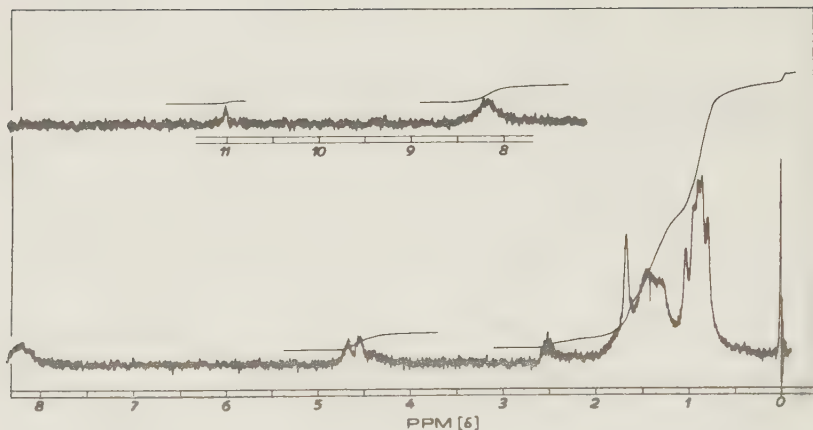
Figur 50: NMR-Spektrum der Verbindung Ursolsäuremethylester (60 MHz, DMSO).



Figur 51: NMR-Spektrum der Verbindung Ursolsäuremethylester nach Zugabe von Trichloracetylisocyanat (60 MHz, DMSO).

Figur 51 zeigt das Spektrum derselben Substanz drei Minuten nach Zusatz von zwei Tropfen Trichloracetylisocyanat: Bei 11.45 ppm (δ) erscheint das NH-Signal des TAI-Umsetzungsproduktes. Bei 8.2 ppm (δ) liegt die NH_2 -Bande des durch die Reaktion des Wassers mit TAI entstandenen Trichloracetamids. Der Peak des Vinylprotons am C-12 bleibt unverändert bei 5.15 ppm (δ). Das Signal des α -ständigen H-Atoms am C-3 ist um 1.35 ppm ins tiefere Feld verschoben und tritt nun bei 4.35 ppm (δ) auf. Die Bande des Wassers bei 3.25 ppm (δ) ist verschwunden.

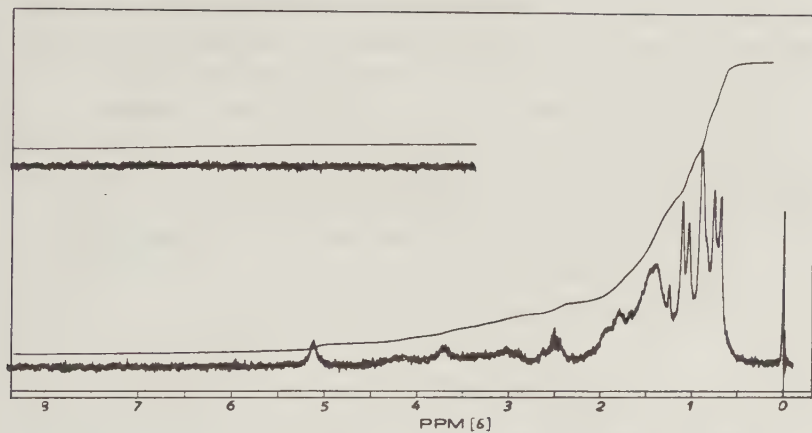
Die Verbindung Lupeol (siehe Figur 52) verhält sich nach Zugabe von TAI ähnlich: Die NH-Resonanz des TAI-Derivates liegt bei 11.0 ppm (δ), die NH_2 -Bande des Trichloracetamids erscheint wiederum bei 8.2 ppm (δ). Das Signal des α -H-Atoms am C-3 ist von 3.0 ppm (δ) um 1.45 ppm nach 4.45 ppm (δ) gewandert.



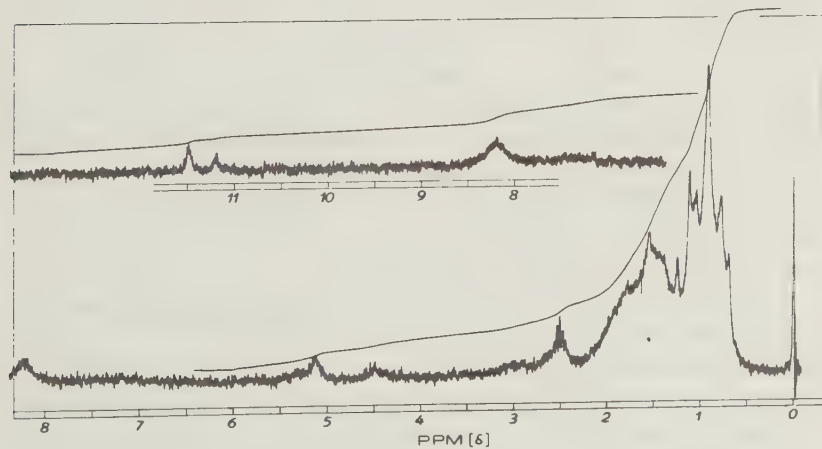
Figur 52: NMR-Spektrum der Verbindung Lupeol nach Zugabe von Trichloracetylisocyanat (60 MHz, DMSO).

Als wichtiger Unterschied zwischen den in DMSO und den in Chloroform aufgenommenen Spektren ergibt sich somit die stärkere Verschiebung der NH-Signale ins tiefere Feld bis über 11 ppm (δ) hinaus. Auch das Signal des durch die Reaktion mit Wasser entstandenen Trichloracetamids ist leicht von 7.8 nach 8.2 ppm (δ) verschoben.

Die Aufnahme der Verbindung Sn-2 bestätigt diese Beobachtung. Figur 53 zeigt das DMSO-Spektrum vor Zusatz von TAI. Bei 4.15 und 3.7 ppm (δ) finden sich zwei breite OH-Signale. Die ebenfalls breite Bande des α -ständigen H-Atoms am C-3 liegt bei 3.0 ppm (δ). Drei Minuten nach Zugabe von TAI (2 Tropfen) zeigt das Spektrum folgende Veränderungen (siehe Figur 54): Bei 11.2 und bei 11.5 ppm (δ) erscheinen zwei NH-Signale. Bei 8.2 ppm (δ) liegen wiederum die NH_2 -Resonanzen des Trichloracetamids. Die OH-Banden bei 4.15 und 3.7 ppm (δ) sind verschwunden. Das Signal des α -ständigen H-Atoms am C-3 ist um 1.5 ppm nach 4.5 ppm (δ) ins tiefere Feld verschoben. Weitere Verschiebungen von H-Resonanzen sind nicht erkennbar; die Annahme, daß die zweite Hydroxy-Gruppe von Sn-2 tertiärer Natur



Figur 53: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-2 (60 MHz, DMSO).



Figur 54: NMR-Spektrum der Verbindung Sn-2 nach Zugabe von Trichloracetylisocyanat (60 MHz, DMSO).

sein muß. wird dadurch bestätigt.

Zusammenfassung: Die ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchung der Verbindung Sn-2 brachte folgende Ergebnisse:

1. Die Aufnahme in DMSO zeigte einen sekundären Alkohol (Doublett bei 4.16 ppm (δ) und einen tertiären Alkohol (Singulett bei 3.74 ppm (δ)) an.
2. Umsetzung mit Trichloracetylisocyanat bestätigte ebenfalls das Vorliegen zweier OH-Gruppen. Verschiebung eines H-Signals um 1.5 ppm bewies ein sekundäres Hydroxyl; das Fehlen weiterer Resonanzverschiebungen wies für die zweite alkoholische Gruppe auf ein tertiäres OH hin.

4.3.8. Die Stellung der tertiären Alkoholgruppe.

Ehe auf das Kernproblem eingegangen wird, die Stellung der zweiten OH-Gruppe im Molekül festzulegen, seien noch einmal die wesentlichen Fakten wiederholt, die dazu geführt haben, Sn-2 als ein Hydroxy-Derivat der Ursolsäure anzusehen.

Für die Einordnung in die Ursolsäure-Reihe wurde die von SNATZKE, LAMPERT und TSCHESCHE [72] angegebene Methode des IR-Vergleichs herangezogen. Die IR-Spektren von Sn-1 und Sn-2 sind in den für die Zuordnung wichtigen Spektralbereichen ($1200-1400\text{ cm}^{-1}$) deckungsgleich.

Das Vorliegen einer zusätzlichen OH-Gruppierung ergibt sich aus folgenden Überlegungen:

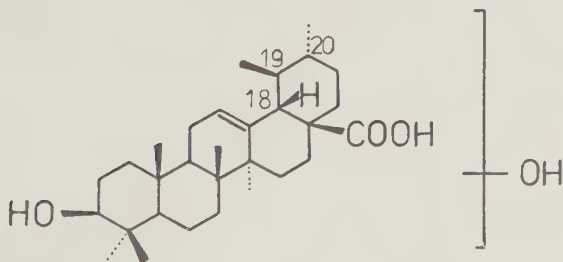
- 1.) Die Elementaranalyse zeigt ein zusätzliches Sauerstoff-Atom im Molekül an.
- 2.) Die Verbindung ist stärker polar als die Substanz Sn-1 und zwar entsprechen die R_m -Differenzen (Fließmittel I* = -0.408; Fließmittel II* = -0.560) einer tertiären OH-Gruppe unter vergleichbaren Chromatographiebedingungen (Withanolide und 20-Hydroxy-withanolide: R_m -Differenz = -0.540; siehe HÄNSEL, HUANG und ROSENBERG [75])
- 3.) Im NMR-Spektrum finden sich Signale für zwei OH-Protonen

* Siehe Seite 86

(Umsetzung mit Trichloracetylisocyanat, siehe Kapitel 4.3.7.).

Für den tertiären Charakter der zweiten Alkoholgruppe sprechen folgende Beobachtungen:

- 1.) Sie ist unter den üblichen Bedingungen (Acetanhydrid/Pyridin) nicht acetylierbar.
- 2.) Die leichte Eliminierung von Wasser im Massenspektrum der Verbindung Sn-2 und ihrer Derivate, die dazu führt, daß das Molekülion nur sehr schwach oder überhaupt nicht auftritt, der M^+-18 -Peak dagegen immer sehr deutlich zu sehen ist. So ist die Intensität des M^+-18 -Peaks des acetylierten Methyl-esters von Sn-2 - bei dem die veresterte, sekundäre OH-Gruppe am C-3 keinen Anteil an der Wasserabspaltung haben kann - etwa 90 mal stärker als die des M^+ -Peaks.
- 3.) Die Multiplizität der OH-Signale im NMR-Spektrum mit DMSO als Lösungsmittel beweist neben einem sekundären Alkohol (Doublett bei 4.16 ppm (σ)) auch ein tertiäres Hydroxyl (Singulett bei 3.74 ppm (σ)).



Figur 55: Die Verbindung Sn-2 mit noch nicht lokalisierter OH-Gruppe.

Die für die Stellung und die Konfiguration der tertiären OH-Gruppe entscheidende Beobachtung ist die leichte Bildung eines Laktons. Die Laktonisierung findet nicht nur säurekatalysiert unter sehr milden Bedingungen (Versetzen der alkoho-

lischen Lösung mit saurem Ionenaustauscherharz „Amberlite IR-120“, 15 min., 90° C) sondern sehr Überraschend auch beim bloßen Erhitzen wenige Grad über den Schmelzpunkt statt. Nicht nur die milden Reaktionsbedingungen, sondern auch die im NMR-Spektrum unveränderte Lage des olefinischen Protons (breites Triplett bei 5.5 ppm (δ)) sprechen dagegen, daß die Laktonisierung wie in der Triterpen-Reihe vielfach beobachtet an die benachbarte Δ^{12} -Doppelbindung erfolgt ist (vgl. z.B. WINTERSTEIN und WIEGAND [76], MERZ und TSCHUBEL [77]).

Für die Stellung der fraglichen OH-Gruppe kommen somit die 2o β - und die 19 β -Konfiguration in Betracht. Das IR-Spektrum des Laktons (beobachtete C=O-Streckschwingungen bei 1730 cm⁻¹) erlaubt die eindeutige Entscheidung gegen das Vorliegen eines γ -Laktons gebildet durch ein 19 β -OH (C=O-Streckschwingungen bei 1790-1777 cm⁻¹) zugunsten eines δ -Laktons (C=O-Streckschwingungen bei 1747-1735 cm⁻¹) und damit der 2o β -Hydroxy-Gruppe (IR-Vergleichswerte aus KATRITZKY [78], COLE [79] und NAKANISHI [80]).

Zur Entscheidung zwischen 19 β - und 2o β -OH lassen sich leider die Verschiebungen der Methylgruppen am C-19 und C-20 nicht heranziehen. Gerade diese beiden Methylsignale des Δ^{12} -Ursanskeletts sind im Gegensatz zu den scharfen Singulett der tertiären Methylsignale unter dem Berg der CH- und CH₂-Signale des komplexen Triterpens „begraben“. Darauf weisen auch SHAMMA u.a. [116], Karliner und DJERASSI [117] und CHEUNG und WILLIAMSON [115] hin.

Für das Vorliegen des 2o β -Hydroxyl spricht aber weiterhin im NMR das Fehlen eines Singulett des im Falle einer 19-OH-Gruppe isoliert stehenden Protons am C-18. Nach BERMÉJO [81], der die 19 α -Hydroxy-ursolsäure (Benthamsäure) beschrieb, liegt das relativ scharfe Signal dieses Wasserstoffs bei 2.63 ppm (δ).

Für das genuine Vorliegen des 2o β -Hydroxyl spricht schließlich der Vergleich des molaren Drehvermögens der 19 α -Hydroxy-ursolsäure (Benthamsäure) und der Verbindung Sn-2 mit den Werten der als Bezugssubstanz benutzten Ursolsäure (siehe Figur 56). Die tertiäre OH-Gruppe der Verbindung Sn-2 liefert einen positiven Beitrag (Durchschnittswert = +160°) zur Gesamtdrehung, das 19 α -OH der Benthamsäure erbringt dagegen ei-

	M_D -Wert
Benthamsäure	?
Sn-2	+435 ⁰
Ursolsäure	+301 ⁰
Benthamsäuremethylester	+189 ⁰
Sn-2-methylester	+467 ⁰
Ursolsäuremethylester	+296 ⁰
Acetyl-Benthamsäuremethylester	+216 ⁰
Acetyl-Sn-2-methylester	+465 ⁰
Acetyl-Ursolsäuremethylester	+292 ⁰

Figur 57: Vergleich des molaren Drehvermögens der Benthamsäure (nach BERMEJO [81]) und der Verbindung Sn-2. Ursolsäure als Bezugssubstanz.

nen negativen Beitrag (Durchschnittswert = -93^0). Diese einander entgegengesetzte Drehungsbeiträge ergeben für die beiden verglichenen OH-Gruppen auch entgegengesetzte Konfigurationen, d.h., für die OH-Gruppe von Sn-2 die β -Stellung. Ein vergleichbares Beispiel aus dem Steroidbereich findet sich bei ELIEL [82]. Zugleich fällt aber auch der Unterschied in der Größenordnung der verglichenen Molrotationsunterschiede auf, der weit außerhalb der Fehlergrenze liegen dürfte. Stünden die tertiären OH-Gruppen beider Verbindungen nämlich am selben C-Atom des Δ^{12} -Ursanskeletts, müßte ihr Beitrag zur Gesamtdrehung des Moleküls in etwa gleich groß sein (ELIEL [82]). Da dies nicht der Fall ist, verbietet sich für das tertiäre OH von Sn-2 die Stellung am C-19.

Ein Einwand gegen die bisherige Beweisführung, die sich auf die Ausbildung eines Sechsring-Laktons, das fehlende Singulett des C-18-Protons im NMR und den Vergleich der M_D -Werte der Verbindung Sn-2 und der bekannten 19α -Hydroxy-ursolsäure stützte, ließe sich etwa folgendermaßen formulieren: Unter dehydratisierenden Bedingungen erfolgt Elimination eines Moleküls H_2O unter Bildung einer $19,20$ -Doppelbindung und erst ein zweiter Schritt würde die additive Laktonisierung darstellen, wie sie in der Triterpen-Reihe mehrfach beschrieben ist (WINTERSTEIN und WIEGAND [76], WINTERSTEIN und STEIN [83]).

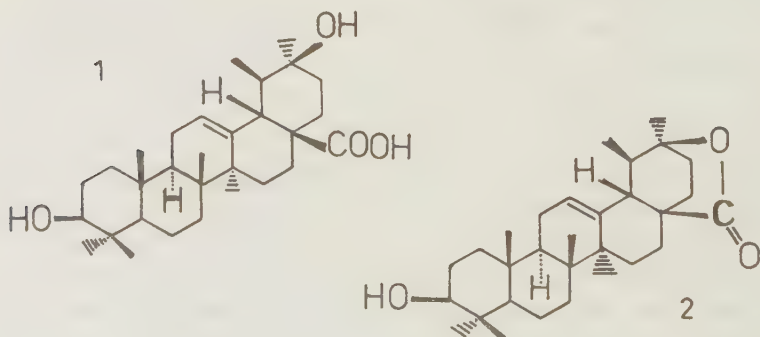
Verbindung	Formel (Seite 85)	DC* [Rf]
Sn-2	<u>5</u>	0.36
Sn-2 nach Erhitzen über den Schmelzpunkt	-	0.61
Sn-2-methyliert	<u>6</u>	0.51
Sn-2-methyliert nach Erhitzen über den Schmelzpunkt	-	0.51

*Kieselgel, Toluol/Aceton (7:3), Nachweis mit Chlorsulfonsäure

Figur 57.

Abgesehen davon, daß zur Ermöglichung dieser Art der Laktonisierung energischere Reaktionsbedingungen erforderlich zu sein scheinen, ist dieser Einwand leicht widerlegbar. Veresterung des Carboxyls führt zu einem Methylester, der den gleichen dehydratisierenden Bedingungen unterworfen unverändert bleibt, d.h., kein Wasser eliminiert (siehe Figur 57).

Die Konstitution und zugleich die relative Konfiguration der Verbindung Sn-2 als 3 β ,20 β -Dihydroxy-ursan-12-en-28-carbonsäure ist damit gesichert (siehe Figur 58).



Figur 58: Die endgültigen Strukturformeln der Verbindung Sn-2 (1) und des zu ihrer Identifizierung wichtigen Laktone (2).

5. EIGENE UNTERSUCHUNGEN - EXPERIMENTELLER TEIL

5.1. Allgemeine Angaben.

5.1.1. Chromatographie.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Größe verwendet. Sie wurden mit dem Streichgerät nach STAHL (Firma Desaga) beschichtet; die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel F Woelm DC) betrug etwa 0.2 mm. Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Laufmitteln beziehen sich auf Volumina (v/v). Die Chromatogramme wurden vor einer Universal-UV-Lampe Typ TL 900 der Firma Camag ausgewertet; Emissionsmaxima wahlweise bei 366 nm und 254 nm. Fertigplatten wurden wegen ihrer Empfindlichkeit gegenüber den benötigten, stark sauren Sprühreagenzien nicht verwendet. Um die verringerte Reproduzierbarkeit der auf den selbstgestrichenen Platten ermittelten Rf-Werte auszugleichen, wurden die entsprechenden Werte von β -Sitosterin als Referenzsubstanz mit angegeben (siehe Figur 63, Seite 86).

Folgende Sprühreagenzien fanden zur Detektion Anwendung:

- 1.) Mischung von 1 Teil Chlorsulfonsäure mit 2 Teilen Eisessig (nach TSCHESCHE und WULF [84]).
- 2.) Lösung von 1 g Vanillin in 100 ml konz. Schwefelsäure.
- 3.) Mischung von 1 Teil Anisaldehyd in 4 Teilen Phosphorsäure.

Optimale Farbausbildung wurde jeweils nach ungefähr 10 min. Erhitzen bei 130^o C im Trockenschrank erzielt.

Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel Woelm mit einer Korngröße von 0.063 - 0.2 mm und Celite verwendet.

5.1.2. Spektroskopie.

IR-Spektroskopie: Die IR-Spektren wurden in der Regel mit einem Perkin-Elmer Fotometer, Modell 421, an KBr-Preßlingen aufgenommen. Das Spektrum auf Seite 55 (Figur 31) wurde mit einem Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP 200 G vermessen.

NMR-Spektrometrie: Die Kernresonanzspektren wurden mit einem Varian-S-60 Spektrometer aufgenommen. Lösungsmittel waren Pyridin_{D5} und DMSO_{D6}. Tetramethylsilan als innerer Standard. Alle Angaben von ppm-Werten nach der δ -Skala.

Massenspektrometrie: Die Massenspektren wurden mit einem CH 7 - Varian Massenspektrographen bei 70 eV und variablen, jeweils angegebenen Temperaturen aufgenommen.

5.1.3. Schmelzpunktbestimmung.

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Heiztischmikroskop der Marke Mettler FP 2 bestimmt.

5.1.4. Optische Drehung.

Die Messung der optischen Drehung wurde mit einem Perkin-Elmer 141 Polarimeter durchgeführt.

5.1.5. Mikroanalysen.

Die Mikroanalysen wurden im Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin durchgeführt.

5.2. Spezielle Angaben.

5.2.1. Herkunft der Droge.

Die untersuchte Droge, Flores Sambuci (Holunderblüten DAB 7), wurde aus dem Handel (Firma Herbata, Berlin-Tempelhof) bezogen. Sie besteht aus den Blüten von Sambucus nigra LINNE, einer Caprifoliacee. Mit Hilfe des Deutschen Arzneibuches, 7. Ausgabe, wurde ihre Identität durch mikroskopische Untersuchungen sichergestellt [85].

In der beschriebenen Arbeit wurden 10 kg Droge verwendet.

5.2.2. Extraktion.

Das Drogenmaterial wurde in Anteilen von 400 g verarbeitet. Jede Einzelmengung wurde mit etwas Toluol versetzt und 5 min. in einem Starmix-Gerät (Waring Blendor de Luxe) zerkleinert. Mit 1 l Toluol wurde das Gemisch in einen Kolben gespült und unter Rückfluß viermal jeweils mit einem weiteren Liter Lösungsmittel je 20 min. bei 80° C ausgezogen. Durch Dekantieren, beim 4. Durchgang durch Abpressen, filtrieren und Einengen im Vakuum bei 60° C wurde der Rohextrakt gewonnen. Zurückgewonnenes Toluol konnte sofort wiederverwendet werden. Aus 1 kg Droge wurden 40 g Toluol-Rohextrakt erhalten.

5.2.3. Weiterbearbeitung des Rohextraktes.

Der gut getrocknete Rohextrakt wurde mit der doppelten Menge Kieselgur (Celite) zu einem gleichmäßigen, gelblichen Pulver

verrieben. Diese Verreibung, insgesamt 1200 g, wurde auf eine Säule (d = 7.5 cm) gebracht, die mit 200 g Celite, aufgeschlemmt in Petrolbenzin, beschichtet war. Eluiert wurde mit reinen Lösungsmittel ansteigender Polarität bei variierender Tropfgeschwindigkeit. Das Eluat wurde jeweils 12 Stunden angesammelt, dann eingeeengt und chromatographiert. Die Ergebnisse dieser Vortrennung zeigt Figur 59.

Fließmittel	Verbrauchte Menge	Benötigte Zeit	Eluierte Substanzmenge
Petrolbenzin	7 l	53 h	251.4 g
Toluol	6 l	27 h	37.4 g
Chloroform	6 l	120 h	30.2 g
Äthylacetat	10 l	120 h	100.1 g

Figur 59: Ergebnis der Vortrennung des Rohextraktes.

Das DC-Ergebnis der Äthylacetat-Fraktion findet sich auf Seite 35 (Figur 10).

5.2.4. Auftrennung des Äthylacetat-Auszuges.

Der mit der vierfachen Menge Celite fein verriebene Äthylacetat-Auszug der Vortrennung (100.1 g) wurde auf eine Säule gebracht (d = 5.5 cm), die mit 500 g Kieselgel, aufgeschlemmt in Toluol/Aceton (95:5), beschickt war. Eluiert wurde mit Toluol/Aceton (92:8) bei einer Tropfgeschwindigkeit von 120 Tr./min. Sobald die erste Substanz begann, mit ihrer Front aus der Säule herauszukommen, wurde die Polarität des Eluierungsmittels allmählich gesteigert, bis schließlich bei einem

Verhältnis von Toluol/Aceton (7:3) die Auftrennung beendet war. Die Fraktionen von je 15 ml Eluat (siehe Figur 60) wurden nach DC-Prüfung (Kieselgel, Toluol/Aceton (7:3)) entsprechend ihren Zugehörigkeiten vereinigt, im Vakuum eingedampft, mit heißem Alkohol aufgenommen, mit etwas Kohle versetzt, filtriert und zum Auskristallisieren beiseite gestellt. Mischfraktionen kamen nur in so geringem Ausmaß vor, daß sie verworfen werden konnten. Figur 61 zeigt das zahlenmäßige Ergebnis des gesamten Isolierungsverfahren.

Fraktionen	Eluierungsmittel	l	Eindampf- rückstand (g)	DC Rf-Werte
1 - 146	Toluol/Aceton 92:8	2.2	-	-
147 - 787	Toluol/Aceton 91:9 bis 82:18	9.6	90.8	0.59 (Sn-1)
788 - 856	Toluol/Aceton 82:18 81:19	0.6 0.5	0.3	0.59 (Sn-1) 0.36 (Sn-2)
857 - 1200	Toluol/Aceton 70:30	4.8	2.9	0.36 (Sn-2)

DC-Prüfung: Toluol/Aceton 7:3, Kieselgel. Detektion durch Ansprühen mit Chlorsulfonsäure und Erhitzen bei ca. 130° C.

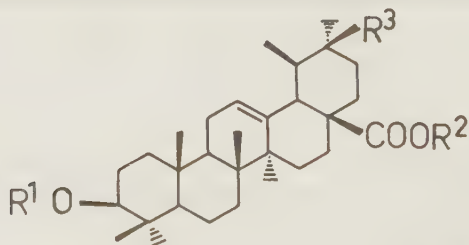
Figur 60: Auftrennung des Äthylacetat-Auszuges über Kieselgel.

	g	%
Ausgangsmaterial (trocken)	10 000	100
Toluolextrakt	400	4
Äthylacetat- Auszug	100.1	1
Ursolsäure	90.8	0.9
20ß-Hydroxy-ursolsäure	2.9	0.03

Figur 61: Quantitativer Verlauf des beschriebenen Isolierungsverfahrens.

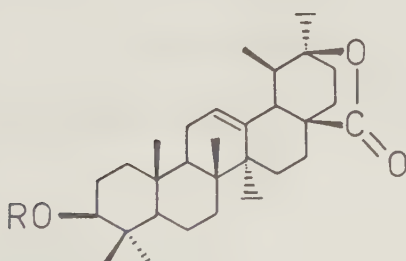
5.2.5. Strukturformeln und R_f-Werte.

Nachfolgend sind die Strukturformeln der in dieser Arbeit isolierten oder synthetisierten Verbindungen zusammengestellt (siehe Figur 62). In Figur 63 finden sich die R_f-Werte dieser Substanzen in drei verschiedenen Fließmitteln.



Nr.	R ¹	R ²	R ³	Name	Labor- Bezeichnung
<u>1</u>	H	H	H	Ursolsäure	Sn-1
<u>2</u>	H	CH ₃	H	Ursolsäuremethylester	Sn-1-methyliert
<u>3</u>	CH ₃ CO	H	H	Acetyl-ursolsäure	Sn-1-acetyliert

Nr.	R ¹	R ²	R ³	Name	Labor- Bezeichnung
<u>4</u>	CH ₃ CO	CH ₃	H	Acetyl-ursolsäure- methylester	Sn-1-methyliert- acetyliert
<u>5</u>	H	H	OH	2oß-Hydroxy-ursol- säure	Sn-2
<u>6</u>	H	CH ₃	OH	2oß-Hydroxy-ursol- säure-methylester	Sn-2-methyliert
<u>7</u>	CH ₃ CO	CH ₃	OH	2oß-Hydroxy-acetyl- ursolsäure-methyl- ester	Sn-2-methyliert- acetyliert



Nr.	R	Name	Labor- Bezeichnung
<u>8</u>	CH ₃ CO	Acetyl-ursolsäure- 28,2o-lakton	Sn-2-acetyliert
<u>9</u>	H	Ursolsäure-28,2o- lakton	Sn-2-lakton

Figur 62: Strukturformeln der beschriebenen Verbindungen.

	Toluol/ Aceton 7:3	CHCl ₃ / MeOH 95:5	Cyclo- hexan/ Äthyl- acetat 3:7
Ursolsäure	59	52	61
Ursolsäure-methylester	66	65	64
Acetyl-ursolsäure	74	71	70
Acetyl-ursolsäure-methylester	78	78	72
20ß-Hydroxy-ursolsäure	36	23	43
20ß-Hydroxy-ursolsäure-methylester	51	47	50
Acetyl-ursolsäure-28,20-lakton	73	78	70
20ß-Hydroxy-acetyl-ursolsäure-methylester	64	68	61
Ursolsäure-28,20-lakton	61	65	58
ß-Sitosterin (Referenzsubstanz)	59	58	60

Figur 63: Rf-Werte ($\times 100$) der beschriebenen Verbindungen (DC, Kieselgel). Siehe auch Kapitel „5.1.1. Chromatographie“.

5.2.6. Eigenschaften der Verbindung Sn-1.

Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$ (456.7).

C,H-Analyse: Berechn.: C 78.90, H 10.59.

Gef.: C 78.33, H 10.59.

Schmelzpunkt: 285-286° C, Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.,
Präparat bei 275° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +66^\circ$ (c = 0.2, Pyridin).

IR: (KBr)

655 (m), 725 (w), 758 (w), 905 (w), 945 (w), 965 (w), 990 (m), 1025 (m), 118 (m), 1175 (w), 1235 (w), 1275 (w), 1355 (m), 1370 (m), 1445 (s), 1625 (w), 1705 (s), 2865 (s), 2925 (s), 2900 (s), 3400 (s), 3500 (s) [cm^{-1}].

NMR: (Pyridin_{D5}, 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala)

8.1-8.4 (HO-C); 5.55 (H-C=C); 3.5 (O-C-H); 2.7 (H₂C-C-O);
2.2-0.9 (Überlagerung vieler Signale mit deutlichen Spitzen
bei 0.90, 0.98, 1.02, 1.20).

MS: (>m/e 100; bei 200°C aufgenommen, Intensitäten in Klammern)

m/e = 456 (1, M⁺), 438 (1), 423 (1), 410 (4), 395 (1), 302 (2),
300 (2), 249 (30), 248 (100), 235 (4), 234 (2), 233 (2), 219
(10), 208 (5), 207 (25), 204 (6), 203 (44), 202 (6), 201 (4),
190 (11), 189 (12), 187 (6), 175 (7), 173 (5), 161 (5), 159
(3), 149 (4), 147 (10), 145 (8), 143 (4), 135 (9), 134 (6),
133 (7), 131 (6), 123 (5), 121 (10), 119 (22), 109 (10),
107 (15), 105 (19).

5.2.7. Methylierung von Sn-1.

250 mg der Verbindung Sn-1 wurden in 50 ml Äther/Äthanol (50:50) gelöst und mit ungefähr 40 ml ätherischer Diazomethanol-Lösung versetzt. Die schwach gelb gefärbte Lösung wurde sofort in das Tiefkühlfach des Kühlschranks gestellt. Nach acht Stunden wurde durch DC-Überprüfung festgestellt, daß die Reaktion beendet war, allerdings auch in geringer Menge einige, zum Teil hydrophilere, zum Teil lipophilere Nebenprodukte entstanden waren. Das Lösungsmittel wurde daraufhin am Vakuumlaufverdampfer abgezogen, der Rückstand mit etwas Celite zu einem gleichmäßigen Pulver verrieben und auf eine Säule (d = 1.0 cm) gebracht, die mit 30 g Kieselgel „Woelm“ (aufgeschlemmt in Toluol/Aceton (98:2)) beschickt war. Eluiert

wurde mit Toluol/Aceton (Anfangsmischung 98:2) in 50 ml -
Portionen, denen jedes Mal 1 % Aceton mehr zugegeben wurde.
Die Tropfgeschwindigkeit betrug 60 Tr./min. Fraktionen wurden
in Reagenzgläsern in Abständen von 10 min. gesammelt,
entsprechend jeweils 8 ml Eluat. Nach DC-Prüfung (Toluol/Ace-
ton (8:2)) wurden die einheitlichen Fraktionen vereinigt;
das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgezogen, der Rückstand
in heißem Methanol aufgenommen, filtriert und zum Auskristal-
lisieren beiseite gestellt. Nach einmaligem Umkristallisieren
aus Äthanol wurden 138 mg weiß-glänzende Kristallpättchen
erhalten.

5.2.8. Eigenschaften von Sn-1-methyliert (Formel 2, Figur 62).

Summenformel: $C_{31}H_{50}O_3$ (470.74).

C,H-Analyse: Berechn.: C 79.10 %, H 10.71 %.

Gef.: C 78.95 %, H 10.92 %.

Schmelzpunkt: $167-168^{\circ}C$, Aufheizgeschwindigkeit $4^{\circ}/min.$,
Präparat bei 155° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +63$ (c = 0.1, Pyridin).

IR: (KBr)

650 (w), 682 (w), 990 (m), 1025 (m), 1100 (w), 1135 (m),
1160 (m), 1180 (m), 1195 (m), 1220 (m), 1265 (m), 1300 (w),
1355 (m), 1370 (m), 1445 (s), 1620 (w), 1720 (s), 2870 (s),
2920 (s), 2940 (s), 3400 (s) $[cm^{-1}]$.

NMR: (Pyridin- d_5 , 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala).

5.4-5.5 (H-C=C); 5.0-5.3 (HO-C); 3.7 ($H_3C-O-CO$); 3.5 (O-C-H);
2.5 (H_2C-C-O); 2.1-0.8 (Überlagerungen vieler Resonanzen mit
deutlich herausragenden Signalen bei 1.2, 1.15, 1.0, 0.95,
0.85).

MS: ($>m/e$ 100; bei 150°C aufgenommen, Intensitäten in Klammern)
 m/e = 470 (3, M^+), 468 (2), 452 (2), 411 (2), 410 (5), 395 (2), 317 (2), 314 (2), 262 (19), 262 (89), 249 (8), 233 (8), 207 (25), 204 (18), 203 (100), 202 (18), 190 (12), 189 (25), 187 (11), 175 (12), 173 (10), 161 (8), 159 (8), 147 (12), 145 (10), 133 (66), 131 (10), 121 (12), 119 (19), 109 (9), 107 (15), 105 (17).

5.2.9. Acetylierung der Verbindung Sn-1.

150 mg der Verbindung Sn-1 wurden in 10 ml Pyridin gelöst. Die eisgekühlte Lösung wurde mit 8 ml frisch destilliertem Essigsäureanhydrid versetzt und 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 100 ml Wasser gegossen. Nach anschließendem Ausschütteln mit Äthylacetat, Waschen mit verdünnter Salzsäure, Natriumcarbonat-Lösung und Wasser, sowie Trocknen mit Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in heißem Methanol aufgenommen, filtriert und zum Auskristallisieren ruhig gestellt. Nach Umkristallisation aus Methanol wurden 85 mg der acetylierten Verbindung Sn-1 in Form von derben, durchscheinenden, prismatischen Kristallnadeln erhalten.

5.2.10. Eigenschaften der Verbindung Sn-1-acetyliert (Formel 3, Figur 62).

Summenformel: $C_{32}H_{50}O_4$ (498.75).

C,H-Analyse: Berechn.: C 77.06 %, H 10.10 %.
Gef.: C 76.84 %. H 10.03 %.

Schmelzpunkt: 260-264°C; Aufheizgeschwindigkeit 4°C/min.;
Präparat bei 250°C aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +60^{\circ}$ ($c = 0.1$, Pyridin).

IR: (KBr)

650 (m), 720 (w), 870 (w), 895 (w), 955 (m), 975 (m), 1015 (m), 1090 (w), 1135 (m), 1155 (m), 1215 (m), 1240 (s), 1270 (s), 1365 (s), 1440 (s), 1620 (w), 1718 (s), 2860 (m), 2920 (s), 2940 (s), 2970 (s), 3380 (s) $[\text{cm}^{-1}]$.

NMR: (Pyridin- d_5 , 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala).

7.9 (COOH ?); 5.5 (H-C=C); 4.9-4.5 (O-C-H); 2.8-2.5 ($\text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{O}$); 2.2-0.8 (viele sich überlagernde Resonanzen, deutlich herausragende Signale bei 2.1 ($\text{H}_3\text{C}-\text{COO}$), 1.2, 1.05, 0.9, 0.85).

MS: ($>m/e$ 100, bei 200 $^{\circ}$ aufgenommen, Intensitäten in Klammern).

$m/e = 498$ (1.3, M^+), 496 (1), 483 (1), 452 (3), 438 (7), 423 (3), 398 (1), 395 (2), 301 (3), 300 (6), 287 (2), 255 (3), 249 (31), 248 (100), 241 (3), 235 (7), 219 (16), 215 (5), 204 (18), 203 (48), 202 (8), 201 (8), 191 (16), 190 (26), 189 (27), 187 (10), 177 (5), 175 (16), 173 (8), 171 (3), 163 (5), 161 (9), 159 (7), 157 (4), 149 (6), 147 (15), 145 (9), 143 (4), 135 (10), 134 (10), 133 (44), 131 (9), 123 (5), 121 (14), 119 (18), 117 (5), 109 (10), 107 (17), 105 (16).

5.2.11. Acetylierung der Verbindung Sn-1-methyliert.

100 mg des Methylesters der Verbindung Sn-1 wurden auf der in Kapitel 5.2.9. beschriebenen Weise mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert. Umkristallisation aus Methanol/Wasser ergab 72 mg feine, weiße Kristallnadelchen.

5.2.12. Eigenschaften der Verbindung Sn-1-methyliert-acetyliert (Formel 4, Figur 62).

Summenformel: $C_{33}H_{52}O_4$ (512.78).

C,H-Analyse: Berechn.: C 77.30 %, H 10.22 %.

Gef.: C 77.53 %, H 10.21 %.

Schmelzpunkt: 243-245° C; Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.,
Präparat bei 230° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +57^\circ$ (c = 0.13, Pyridin).

IR: (KBr)

640 (w), 660 (w), 675 (w), 750 (w), 780 (w), 800 (w), 820 (w),
855 (w), 890 (w), 960 (m), 975 (m), 998 (m), 1020 (s),
1065 (w), 1100 (m), 1132 (m), 1160 (m), 1180 (s), 1195 (s),
1235 (s), 1305 (w), 1365 (s), 1435-1460 (s), 1615 (w),
1722 (s), 2865 (s), 2921 (s), 2940 (s), 2980 (s), 3420 (m) [cm⁻¹].

MS: (>m/e 100; bei 200° aufgenommen, Intensitäten in Klammern).

m/e = 512 (2, M⁺), 497 (1), 453 (4), 452 (4), 437 (2),
412 (1), 409 (1), 393 (1), 377 (1), 316 (1), 315 (1), 314 (2),
268 (1), 264 (2), 263 (19), 262 (92), 256 (3), 255 (3), 250
(4), 249 (18), 248 (4), 241 (2), 233 (6), 215 (4), 204 (17),
203 (100), 202 (19), 201 (8), 191 (8), 190 (18), 189 (36),
187 (11), 177 (3), 175 (11), 173 (9), 171 (3), 163 (4), 161
(7), 159 (7), 157 (5), 149 (4), 147 (12), 146 (6), 145 (9),
143 (6), 135 (8), 134 (9), 133 (64), 132 (7), 131 (10),
123 (4), 121 (12), 119 (28), 117 (5), 109 (10), 107 (16),
105 (16).

NMR: (Pyridin-d₅, 60 MHz, ppm-Werte nach der δ-Skala).

5.5-5.3 (H-C=C); 4.9-4.4 (O-C-H); 3.7 (H₃CO-O); 2.1 (H₃C-CO-O);
2.0-0.8 (viele sich überlagernde Resonanzen mit deutlichen
Einzelsignalen bei 1.15, 0.9, 0.85). .

5.2.13. Isolierung von authentischer Ursolsäure.

500 g aus dem Handel bezogene Bärentraubenblätter (Stammpflanze: *Arctostaphylos uva-ursi* SPRENGEL, Ericaceen), die mit Hilfe des Deutschen Arzneibuches [85] mikroskopisch auf ihre Identität überprüft worden waren, wurden viermal mit je 1 l Toluol bei 80° C 20 min. lang extrahiert. Das Lösungsmittel wurde jeweils dekantiert, nach dem letzten Auszug abgepresst und im Vakuum abgezogen. Der Rückstand (15 g) wurde mit 40 g Celite zu einem gleichmäßigen Pulver verrieben und auf eine Säule (d = 2.5 cm) gebracht, die mit 20 g Celite, aufgeschlemmt in Petrolbenzin, beschickt war. Eluiert wurde zuerst mit 1 l Petrolbenzin, dann mit 0.5 l Chloroform und schließlich mit 1 l Äthylacetat. Der Vorlauf von 1.75 l wurde verworfen, der Rest nach DC-Überprüfung (Kieselgel, Toluol/Aceton (7:3)) vereinigt und zur Säuberung von noch vorhandenen Verunreinigungen über eine Kieselgel-Säule gegeben (Arbeitsanleitung im Kapitel 5.2.7.).

Anschließendes zweimaliges Umkristallisieren ergab 630 mg feine Kristallnadeln.

5.2.14. Eigenschaften der authentischen Ursolsäure.

Summenformel: $C_{30}H_{48}O_3$ (456.71).

C,H-Analyse: Berechn.: C 78.90 %, H 10.59 %.

Gef.: C 78.72 %, H 10.62 %.

Schmelzpunkt: 285-287° C; Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.;
Präparat bei 275° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +69^\circ$ (c = 0.15, Pyridin).

IR: (KBr)

650 (m), 723 (w), 755 (w), 798 (w), 815 (w), 905 (w), 945 (w),
990 (m), 1025 (s), 1080 (m), 1115 (m), 1175 (m), 1195 (w),

1235 (w), 1275 (w), 1370 (s), 1445 (s), 1610 (w), 1705 (s), 2865 (s), 2925 (s), 3420 (s), 3500 (s) [cm^{-1}].

NMR: (Pyridin_{D5}, 60 MHz, ppm-Werte in δ).

6.8-6.2 (HO-C); 5.55 (H-C=C); 3.5 (H-C-O); 2.7 (H₂C-C-O); 2.2-0.8 (viele sich überlagernde Resonanzen mit deutlichen Methylsignalen bei 1.2, 1.0, 0.98, 0.9).

MS: (>m/e 100; bei 200⁰ aufgenommen; Intensitäten in Klammern)

m/e = 456 (2, M⁺), 440 (1), 438 (1), 423 (1), 410 (2), 395 (1), 302 (1), 300 (2), 249 (37), 248 (100), 235 (3), 234 (2), 233 (2), 219 (8), 208 (6), 207 (27), 204 (8), 203 (47), 202 (5), 201 (4), 190 (10), 189 (12), 187 (5), 175 (8), 173 (5), 161 (4), 159 (4), 147 (8), 145 (6), 143 (3), 135 (8), 134 (6), 133 (63), 131 (7), 123 (4), 121 (10), 119 (20), 109 (8), 107 (12), 105 (17),

5.2.15 Eigenschaften der Verbindung Sn-2 (Formel 5, Figur 62).

Summenformel: C₃₀H₄₈O₄ (472.71).

C,H-Analyse: Berechn.: C 76.23 %, H 10.24 %.

Gef.: C 75.77 %, H 10.12 %.

Schmelzpunkt: 210-212⁰ C; Wiederverfestigung der Probe bei 215⁰ C und erneutes Schmelzen bei ca. 290-298⁰ C; Aufheizgeschwindigkeit 4⁰/min.; Präparat bei 200⁰ aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +92^{\circ}$ (c = 0.18, Pyridin).

IR: (KBr)

648 (m), 730 (w), 750 (w), 820 (w), 900 (m), 945 (w), 990 (s), 1020 (s), 1070 (m), 1090 (w), 1125 (w), 1165 (m), 1200 (m), 1245 (m), 1275 (w), 1302 (w), 1375 (s), 1445 (s), 1620 (w), 1685 (s), 2870 (s), 2930 (s), 2965 (s), 3430 (s) [cm^{-1}].

NMR: (Pyridin_{D5}, 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala)

5.53 (H-C=C); 3.3 (H-C-O); 2.4-0.8 (zahlreiche sich überlagernde Resonanzen mit deutlichen Methylsignalen bei 1.4, 1.3, 1.2, 1.08, 1.0, 0.9).

MS: (>m/e 100; bei 150⁰ aufgenommen; Intensitäten in Klammern)

m/e = 454 (7), 452 (2), 436 (3), 421 (2), 410 (3), 409 (2), 408 (4), 393 (2), 314 (3), 301 (4), 300 (5), 299 (4), 285 (7), 273 (5), 255 (9), 247 (54), 246 (79), 231 (16), 218 (26), 207 (48), 203 (32), 202 (67), 201 (100), 190 (51), 189 (42), 187 (78), 175 (83), 173 (43), 161 (24), 160 (28), 159 (42), 157 (22), 147 (48), 146 (59), 145 (52), 143 (26), 135 (43), 133 (59), 131 (52), 121 (46), 120 (32), 119 (79), 117 (28), 115 (26), 109 (43), 107 (59), 105 (78).

5.2.16. Methylierung der Verbindung Sn-2.

100 mg der Verbindung Sn-1 wurden in 30 ml Äthanol/Wasser mit 20 ml ätherischer Diazomethan-Lösung versetzt und in den KÜHLSCHRANK (-10⁰ C) gestellt. Nach 10 Stunden war Sn-2 vollkommen zu dem Methyl ester umgesetzt. Allerdings zeigte die DC-Überprüfung (Kieselgel, Toluol/Acton (8:2)), daß neben dem Methylprodukt in geringer Menge einige Nebenprodukte (hauptsächlich hydrophilere) entstanden waren. Sn-2-methyliert wurde deshalb derselben säulenchromatographischen Reinigung wie Sn-1-methyliert (siehe Kapitel 5.2.6.) unterzogen. Nach anschließendem Umkristallisieren aus Aceton wurden 73 mg weiße, kräftige Kristallnadeln erhalten.

5.2.17. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-methyliert.
(Figur 62, Formel 6)

Summenformel: $C_{31}H_{50}O_4$ (486.74)

C,H-Analyse: Berechn.: C 76.50 %, H 10.35 %.

Gef.: C 76.16 %, H 10.24 %.

Schmelzpunkt: 209-211 $^{\circ}$ C; Aufheizgeschwindigkeit 4 $^{\circ}$ /min.;
Präparat bei 200 $^{\circ}$ aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +97^{\circ}$ (c = 0.13, Pyridin).

IR: (KBr)

645 (w), 670 (w), 745 (w), 785 (w), 805 (w), 850 (w), 900 (m),
930 (w), 945 (w), 990 (s), 1020 (m), 1070 (w), 1090 (w),
1130 (m), 1175 (m), 1195 (m), 1226 (m), 1245 (w), 1268 (m),
1300 (m), 1340 (w), 1350 (w), 1370 (s), 1445 (s), 1615 (w),
1720 (s), 2865 (s), 2925 (s), 2962 (s), 2977 (s), 3455 (s),
3485 (s) [cm^{-1}].

NMR: (Pyridin- d_5 , 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala)

5.5 (H-C=C); 5.1 (HO-C); 3.7 ($H_3C-O-CO$); 3.2 (H-C-O);
2.2-0.8 (viele sich überlagernde Resonanzen mit herausragenden Methylsignalen bei 1.4, 1.25, 1.0, 0.95, 0.9).

MS: (m/e 100; bei 200 $^{\circ}$ aufgenommen; Intensitäten in Klammern)

m/e = 486 (1, M^+), 468 (94), 453 (12), 450 (6), 436 (6),
409 (46), 393 (8), 391 (6), 386 (6), 314 (8) 299 (6),
260 (42), 255 (18), 247 (66), 246 (65), 231 (32), 228 (60),
207 (76), 203 (44), 202 (72), 210 (100), 200 (48), 199 (26),
189 (48), 187 (66), 185 (45), 175 (72), 173 (32), 171 (24),
161 (24), 159 (34), 157 (22), 147 (40), 145 (42), 135 (32),
133 (42), 131 (48), 121 (36), 119 (52), 109 (22), 107 (40),
105 (44).

5.2.18. Acetylierung der Verbindung Sn-2.

100 mg der Verbindung Sn-2 wurden auf der in Kapitel 5.2.8. beschriebenen Weise mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert. Umkristallisation aus Toluol ergab 89 mg durchscheinende, unregelmäßige Kristallplättchen.

5.2.19. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-acetyliert

(siehe Figur 62, Formel 8).

Summenformel: $C_{32}H_{48}O_4$ (496.74).

C,H-Analyse: Berechn.: C 77.38 %, H 9.74 %.

Gef.: C 76.87 %, H 9.65 %.

Schmelzpunkt: 284–290° C; Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.;
Präparat bei 275° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -9^\circ$ (c = 0.1, Pyridin).

IR: (KBr)

645 (w), 712 (w), 762 (w), 800 (m), 890 (w), 935 (m),
960 (w), 978 (w), 1016 (m), 1090 (w), 1114 (m), 1140 (w),
1175 (w), 1236 (s), 1315 (w), 1365 (m), 1448 (m), 1614 (w),
1730 (s), 2850 (m), 2935 (s), 2960 (s), 3420 (m) $[cm^{-1}]$.

NMR: (Pyridin- d_5 , 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala)

5.45 (H-C=C); 4.7 (H-C-O); 3.2 (H₂C-C-O); 2.1 (H₃C-CO-O);
2.0–0.7 (viele sich überlagernde Resonanzen mit herausragenden
Methylsignalen bei 1.24, 1.12, 0.95, 0.86, 0.72).

MS: (>m/e 100; bei 200° aufgenommen, Intensitäten in Klammern)

m/e = 496 (7, M⁺), 453 (1), 451 (7), 436 (8), 421 (5),
393 (2), 300 (5), 248 (8), 248 (9), 247 (9), 246 (100),
234 (6), 231 (6), 218 (15), 215 (8), 213 (6), 203 (33),
202 (69), 210 (51), 200 (10), 199 (11), 190 (5), 189 (35),

187 (61), 185 (9), 175 (54), 173 (17), 171 (8), 163 (8),
161 (13), 160 (14), 159 (16), 157 (6), 147 (21), 146 (21),
145 (20), 135 (13), 131 (16), 121 (17), 119 (24), 117 (6),
109 (11), 107 (21), 105 (28).

5.2.20. Acetylierung der Verbindung Sn-2-methyliert.

Um die Verbindung Sn-2-acetyliert-methyliert zu erhalten, muß Sn-2 zuerst methyliert werden, da sich, wie im Hauptteil dargelegt, die ungeschützte Säuregruppe bei der Acetylierung mit der tertiären OH-Gruppe zu einem Lakton umwandelt. Bei vorausgegangener Acetylierung ändert also eine Methylierungsreaktion die Substanz nicht, es wird als Endprodukt lediglich Sn-2-acetyliert erhalten (Eigenschaften siehe im Kapitel 5.2.19.)

100 mg der Verbindung Sn-2-methyliert wurden auf der in Kapitel 5.2.9. beschriebenen Weise mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert und mit etwas Kohle gereinigt. Umkristallisation aus Toluol ergab 88 mg feine Kristallplättchen.

5.2.21. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-methyliert-acetyliert.

(siehe Figur 62, Formel 7)

Summenformel: $C_{33}H_{52}O_5$ (528.87).

C,H-Analyse: Berechn.: C 74.95 %, H 9.91 %.

Gef.: C 74.47 %, H 9.82 %.

Schmelzpunkt: 204 - 205° C; Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.;
Präparat bei 195° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +88^\circ$ (c = p.1, Pyridin).

IR: (KBr)

605 (w), 650 (w), 752 (w), 784 (w), 808 (w), 895 (m),
940 (w), 960 (w), 975 (w), 999 (m), 1015 (m), 1068 (w),
1088 (w), 1115 (w), 1137 (w), 1160 (w), 1195 (m), 1234 (s),
1303 (w), 1360 (s), 1372 (m), 1440 (m), 1462 (m), 1610 (w),
1720 (s), 2940 (s), 2975 (s), 3420 (m), 3510 (w),
3612 (s) [cm^{-1}].

NMR: (Pyridin_{D5}, 60 MHz, ppm-Werte nach der δ -Skala)

5.45 (H-C=C); 5.05 (HO-C); 4.7 (H-C-O); 3.7 (H₃C-O-CO);
3.2 (H₂C-C-O); 2.1 (H₃C-CO-O); 2.0-0.8 (viele sich überla-
gernde Resonanzen mit deutlich herausragenden Methylsignalen
bei 1.40, 1.24, 0.90, 0.88).

MS: (m/e 100; bei 150⁰ aufgenommen; Intensitäten in Klammern)

m/e 528 (0.3, M^+), 511 (15), 510 (28), 496 (5), 495 (4),
468 (1), 453 (3), 452 (9), 451 (21), 450 (15), 437 (4),
436 (9), 435 (7), 429 (3), 421 (4), 410 (1), 409 (1), 408 (1),
407 (3), 396 (2), 393 (4), 392 (5), 391 (9), 375 (3), 368 (4),
367 (3), 353 (4), 325 (3), 314 (5), 300 (5), 299 (6), 285 (5),
260 (20), 247 (61), 246 (46), 231 (15), 228 (7), 218 (18),
215 (18), 202 (48), 201 (100), 190 (61), 189 (74), 187 (54),
175 (59), 173 (23), 161 (23), 159 (28), 147 (38), 145 (33),
135 (26), 133 (38), 131 (41), 121 (33), 119 (44), 109 (18),
107 (33), 105 (38).

5.2.22. Laktonisierung der Verbindung Sn-2.

Die Laktonisierung erfolgte auf zwei verschiedenen Wegen:

1.) 30 mg der Verbindung Sn-2 wurden auf einem Objektträger
in einem Heiztischmikroskop (Mettler FP 2) vorsichtig über
ihren Schmelzpunkt hinaus erhitzt. Nachdem sich die Probe bei
215⁰ C wieder verfestigt hatte, wurde sie zum Abkühlen bei-
seite gestellt und abschließend aus Äthanol umkristallisiert.
Unter den gleichen Bedingungen bleibt die Substanz Sn-2-
methyliert unverändert.

2.) 100 mg der Verbindung Sn-2, gelöst in 10 ml Äthanol, wurden mit ein paar Spatelspitzen sauren Ionenaustauscherharzes (Amberlite IR-120) versetzt und 15 Minuten auf dem Wasserbad bei 90° C erhitzt. Nach DC-Überprüfung (Kieselgel, Toluol/Aceton (7:3)) wurde abfiltriert und über eine kleine Säule (Arbeitsvorschrift siehe im Kapitel 5.2.7.) gereinigt. Kristallisation ebenfalls aus Äthanol.

Beide Verfahren ergaben die gleichen kleinen, unregelmäßigen Kristallplättchen mit identischen Eigenschaften.

5.2.23. Eigenschaften der Verbindung Sn-2-laktonisiert.

(siehe Figur 62, Formel 9)

Summenformel: $C_{30}H_{46}O_3$ (454.67).

C,H-Analyse: Berechn.: C 79.25 %, H 10.20 %.

Gef.: C 78.98 %, H 10.17 %.

Schmelzpunkt: 278-292° C (Zersetzung); Aufheizgeschwindigkeit 4°/min.; Präparat bei 268° aufgelegt.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -14^{\circ}$ (c = 0.1, Pyridin).

IR: (KBr)

630 (w), 650 (w), 713 (w), 755 (w), 798 (m), 850 (w), 935 (m), 958 (w), 1018 (m), 1037 (m), 1070 (m), 1110 (s), 1145 (w), 1172 (w), 1215 (w), 1234 (s), 1280 (w), 1319 (w), 1355 (w), 1369 (s), 1383 (m), 1450 (s), 1510 (w), 1730 (s), 2838(m), 2870 (s), 2928 (s); 2960 (s), 3035 (w), 3430 (m), 3540 (s) $[cm^{-1}]$.

NMR: (Pyridin_{D5}, 60 MHz, ppm-Werte nach der σ -Skala)

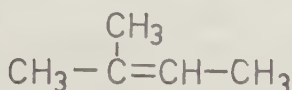
5.5 (H-C=C); 3.35 (H-C-O); 2.1-0.7 (viele sich überlagern-Resonanzen mit Methylsignalen bei 1.21, 1.10, 1.05, 0.95, 0.78).

MS: ($>m/e$ 100; bei 150° aufgenommen; Intensitäten in Klammern)

$m/e = 454$ (6, M^+), 452 (2), 439 (1), 437 (1), 436 (3),
421 (2), 410 (2), 408 (2), 393 (2), 314 (3), 300 (6),
285 (3), 259 (3), 255 (5), 247 (84), 246 (100), 233 (12),
231 (12), 218 (22), 207 (67), 202 (64), 201 (86), 190 (62),
189 (37), 187 (62), 175 (75), 173 (28), 159 (28), 160 (22),
147 (42), 146 (44), 145 (40), 135 (28), 133 (40), 131 (28),
121 (33), 119 (53), 107 (28), 105 (47).

6. PENTAZYKLISCHE TRITERPENE ALS PFLANZENINHALTSSTOFFE

Ursolsäure und 20ß-Hydroxy-ursolsäure, deren Isolierung in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurde, gehören in die Reihe der pentazyklischen Triterpene. Diese Verbindungen zählen zu der großen Klasse der Terpene oder Isoprenoiden, deren gemeinsames Aufbauprinzip der verzweigte C₅-Körper des



Figur 64: Isopren.

Isoprens ist (siehe Figur 64). Je nach Anzahl der miteinander verbundenen Isopreneinheiten unterscheidet man gewöhnlich zwischen Mono- bis zu Polyterpenen (siehe Figur 65).

Zahl der C ₅ -Bausteine	Name	Vorkommen (Beispiele)
1	Hemiterpene	in Substanzen mit gemischtem Bauprinzip, z. B. den Hopfenbitterstoffen, lipophilen Kumarinen u. Flavonoiden
2	Monoterpene	in ätherischen Ölen, glykosidisch in Bitterstoffen und als Pseudoindikane
3	Sesquiterpene	in ätherischen Ölen, besonders auch in gefärbten (Azulene), als Bitterstoffe (bes. der Kompositen)
4	Diterpene	„Harzsäuren“ in Balsamen und Harzen; Phytol, Vitamin A; Grayanotoxine (Andromedotoxin und verwandte Giftstoffe der Ericazeen), Gibberelline (Wuchsstoffe)
6	Triterpene	Squalen, Saponine, Steroide (herzwirksame Glykoside, Phytosterine), in Wachsen und Harzen
8	Tetraterpene	Carotinoide
(n)	Polyterpene	Kautschuk, Guttapercha

Figur 65: Aus Isopreneinheiten aufgebaute Naturstoffe (aus STEINEGGER und HÄNSEL [86]).

6.1. Biogenese und Endausgestaltung.

Die Aufklärung der Terpen-Biogenese nahm im Jahr 1887 mit der Formulierung der „Isopren-Hypothese“ durch WALLACH [87] ihren Anfang. Diese Hypothese, entscheidend weiterentwickelt durch RUZICKA [88,89], besagt, daß die in der Natur vorkommenden Terpene aus Isopren-, bzw. Isopentaneinheiten aufgebaut werden. Fast alle damals bekannten Terpene ließen sich so formal in C_5 -Bausteine zerlegen. Die Anzahl der möglichen Formeln bei Konstitutionsaufklärungen wurde dadurch sehr beschränkt.

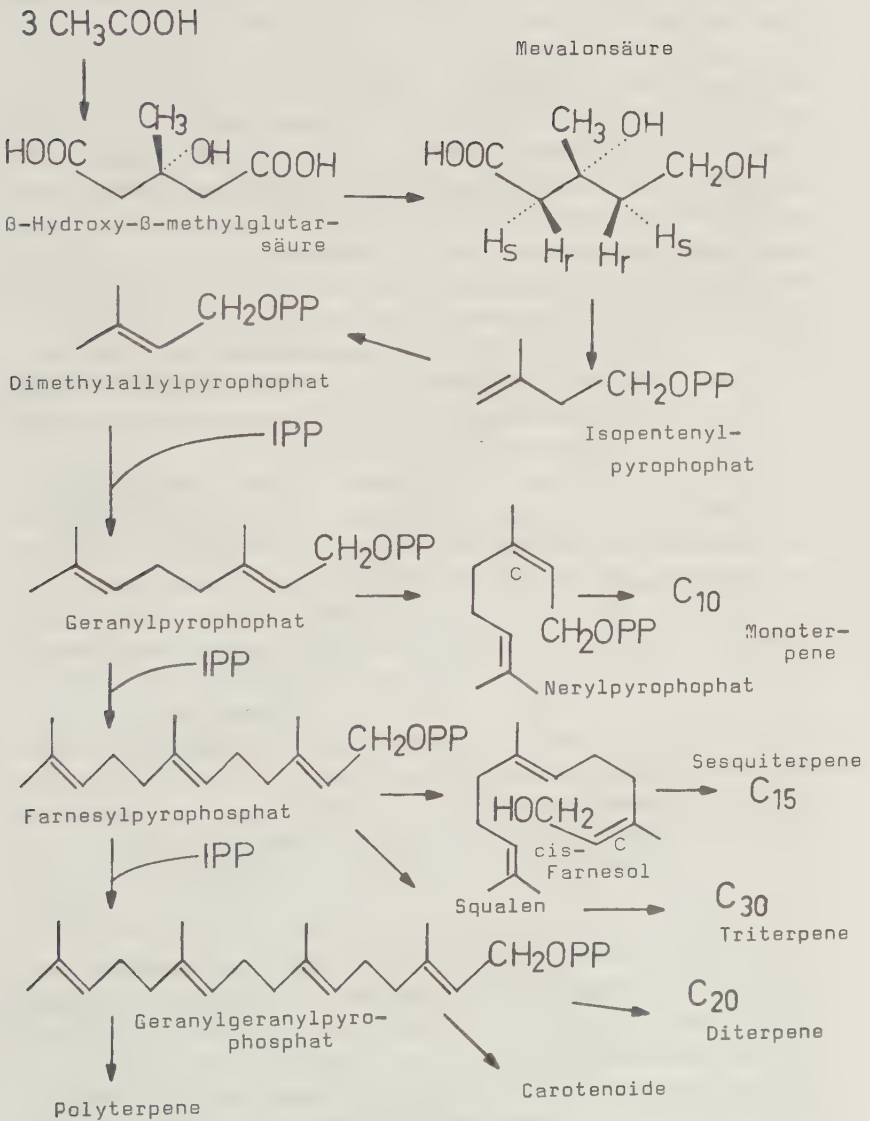
Als biogenetische Vorläufer dieser C_5 -Einheiten wurden Essigsäure, Leucin, Valeriansäure, β,β -Dimethylacrylsäure, β -Methylglutaconsäure und andere genannt (siehe SANDERMANN [90]). Der tatsächlich wichtigste Vorläufer des C_5 -Körpers wurde aber erst mit der Entdeckung der Mevalonsäure durch die Gruppe um FOLKERS [91,92] und mit der nachfolgenden Arbeit von BLOCH [92] festgelegt.

Weitere Untersuchungen von BLOCH [93,94] und LYNEN [95,96] ergaben, daß das Isopentenylpyrophosphat das „aktive Isopren“, d.h. der wirklich sich kondensierende C_5 -Baustein, ist, der aus der Mevalonsäure durch Decarboxylierung und Phosphorylierung entsteht.

Auf diesen grundlegenden Erkenntnissen aufbauend entwickelte sich das heute gültige Bild der Terpen-Biosynthese, das in Figur 66 schematisiert dargestellt wird.

Die einzelnen Reaktionsschritte sind stereospezifisch; beim Entstehen neuer Doppelbindungen werden immer ganz bestimmte Wasserstoffatome abgespalten. So führt die Anfangsreaktion durch Kondensation von drei Molekülen Essigsäure (gebunden an Coenzym A) in allen Fällen nur zu einer einzigen Isomeren der β -Hydroxy- β -methylglutarylsäure. Das Gleiche gilt für die weiteren Zwischenprodukte der Reaktionskette bis hin zum C_{10} -Körper Geranylpyrophosphat.

Weitere Kettenverlängerung zu den C_{15} - und C_{20} -Bausteinen erfolgt durch die Aufnahme weiterer Moleküle Isopentenylpyrophosphat, die sich in der gleichen stereospezifischen Weise anlagern. Neu gebildete Doppelbindungen sind stets trans (Eine



Figur 66: Biosynthese der Terpenverbindungen (nach SWAIN [66]).

Ausnahme bildet das Kautschuk) und entstehen immer durch Abspaltung des H_s -Atoms an der ursprünglichen C-4-Position der Mevalonsäure.

Die Übereinstimmung dieser Reaktionen in allen Terpene synthetisierenden Organismen läßt schließen, daß sie und die Enzyme, die sie bewirken, eine frühe und bewährte Errungenschaft der Evolution darstellen. Da die meisten niederen Organismen aber keine Mono-, Sesqui- und Diterpene produzieren, kann angenommen werden, daß die Biogenese dieser Gruppen eng mit der Freisetzung ihrer unmittelbaren Vorläufer von dem alten Enzymkomplex zusammenhängen muß. Ein Beweis dafür ist, daß die festgebundenen Dimethylallylpyrophosphat-Vorläufer sich zwar nicht mit ^{14}C -Mevalonsäure austauschen lassen, aber trotzdem an der Biosynthese der Monoterpene in höheren Pflanzen beteiligt sind (CROTEAU u.a. [98,99]).

Die Bildung zyklischer Formen scheint an die Umwandlung der endständigen trans-Doppelbindung in die cis-Form gebunden zu sein. Möglicherweise beendet diese Isomerisierung die Kettenverlängerung und bewirkt gleichzeitig die Freilassung der betreffenden Verbindung vom Enzym-Komplex. So erweist sich Nerylpyrophosphat, das cis-Isomere der C_{10} -Verbindung Geranylpyrophosphat als Vorläufer der zyklischen Monoterpene und ebenso ist das cis-Farnesol (C_{15}) die Ausgangssubstanz für die zyklischen Sesquiterpene. Weitere Umwandlungen, wie sie zur Erklärung der Entwicklung verschiedener Substanzgruppen vorgeschlagen wurden und die meistens über Carbonium-Ionen als Zwischenprodukte gehen, bedürfen noch des Beweises.

Der Weg zu den Triterpenen führt in allen Organismen über das Squalen. Diese nicht zyklische C_{30} -Verbindung entsteht durch die ansonsten ziemlich unübliche Kopf-Kopf-Kondensation von zwei Molekülen Farnesylpyrophosphat mit nachfolgendem Cyclopropan-Zwischenprodukt und abschließender Reduktion mit NADPH (siehe Figur 67). Sie ergibt durch die Art ihrer Faltungs- und Zyklisierungsmöglichkeiten in Zusammenhang mit Methylgruppenwanderung die Vielfalt der tetra- und pentazyklischen Triterpene.

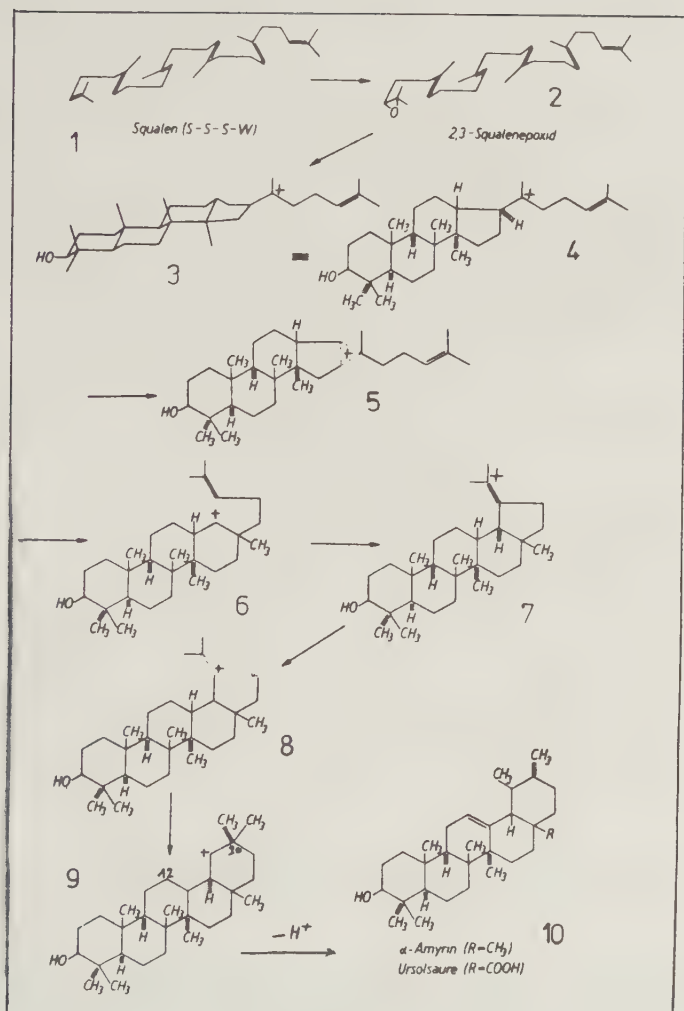
Als Beispiel soll die Entstehung des α -Amyrins skizziert werden, zu dessen Gruppe auch die beiden in dieser Arbeit gefun-

und am C-2-Atom eine positive Ladung zurückbehält. Dieses 3-Hydroxy-squalenkation zyklisiert spontan. Anzahl und Konformation der entstehenden Ringe richten sich nach der Faltung der Squalenkette. Die auch nach der Zyklisierung noch vorhandene positive Ladung geht durch Abspaltung eines Protons verloren. Vorher kann sie jedoch noch mehr oder weniger weit durch das Molekül wandern und dabei die 1,2-Verschiebung von Substituenten (WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung) verursachen. Unter WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung werden hierbei alle säurekatalysierten Umlagerungen zusammengefaßt, bei denen ein H-Atom oder eine Alkylgruppe zu einem benachbarten C-Atom wandert und bei denen sich Carbonium-Ionen als Zwischenprodukte formulieren lassen. Voraussetzung dafür ist die Beibehaltung der räumlichen Lage oberhalb, bzw. unterhalb der Zeichenebene durch die wandernde Gruppe. Die Konformation des Ringsystems dagegen kann sich nach jedem Verschiebungsschritt ändern.

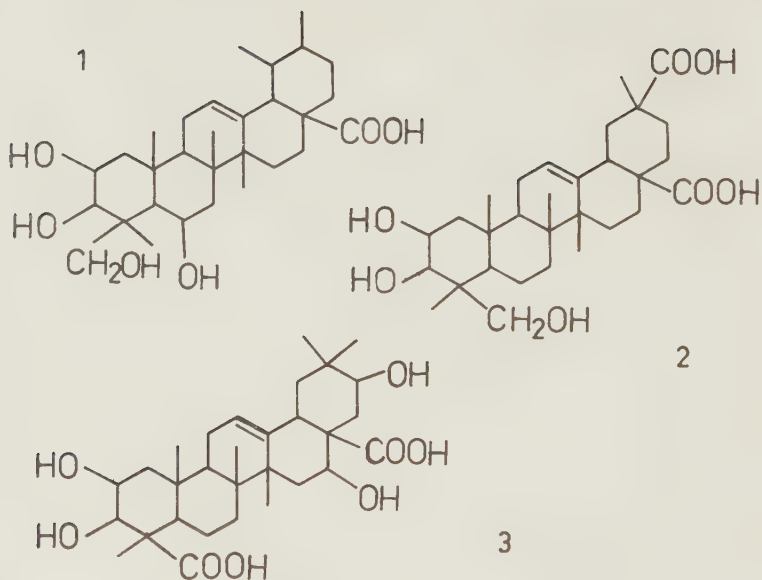
Im vorliegenden Fall kommt es durch WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung über die Verbindung 5 (siehe Figur 68) zur Erweiterung des Ringes D (Verbindung 6). Weiterer Ringschluß und erneute WAGNER-MEERWEIN-Umlagerung (siehe Verbindungen 7 und 8) führen zur fünfringigen Verbindung 9, die als Ausgangssubstanz einer großen Zahl von pentazyklischen Triterpenen angesehen wird und unter anderem auch durch Methylgruppenwanderung vom C-20 zum C-19 und durch Protonenabspaltung am C-12 zum α -Amyrin-Typ führt (Verbindung 10).

Der wahrscheinlichste Weg vom Squalen zum α -Amyrin wird auf diese Weise zu beschreiben sein. Doch sollte nicht vergessen werden, daß über einige Zwischenstufen noch eine gewisse Unklarheit herrscht.

Das α -Amyrin kann, ebenso wie die vielen anderen Terpenhauptverbindungen, durch Oxydationen weiter verändert werden. Erst dadurch entsteht die ungeheure Vielfalt der Isoprenoiden, die sie zu den funktionsreichsten und am weitest verbreiteten sekundären Pflanzeninhaltsstoffen macht. Der Oxydationsgrad kann bei den pentazyklischen Triterpenen beträchtliche Ausmaße annehmen. So hat z.B. die Madecassäure (PINHAS u.a. [102]) ein C/O-Verhältnis von 5,0, die Jaligonsäure (WOO [104])



Figur 68: Der Weg vom Squalen zur Ursolsäure
(nach LUCKNER [101]).



Figur 69: Madecassäure (1), Jaligonsäure (2) und Platycogensäure (3).

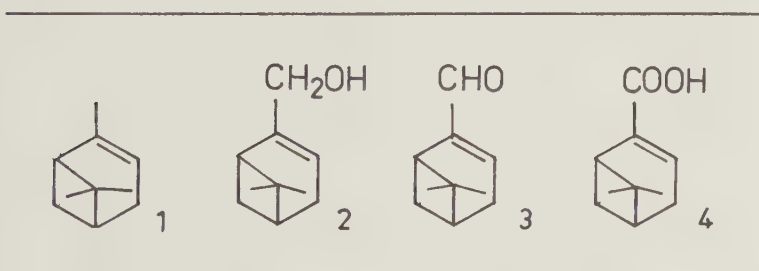
von 4.3 und die Platycogensäure (KUBOTA [104]) sogar von 3.8 (siehe Figur 69).

Die Lage der Hydroxylgruppe am C-3 ergibt sich durch die grundlegende Epoxydierungsreaktion des Squalens. Weitere Sauerstofffunktionen müssen nach Beendigung der Zyklisierungen und Methylgruppenwanderungen entstanden sein. Über den eventuellen Nutzen der verschiedenen Derivate für die Pflanze sind solange nur Spekulationen möglich, wie Stoffwechsel, biologische und ökologische Funktionen nicht bis in einzelne geklärt sind. Ob sie zum Teil als reine Luxurierung angesehen werden können, ob sie vorwiegend als Abfallprodukte dienen, ob sie Abwehrstoffe sind oder wieder eine aktive

Rolle im Stoffwechsel übernehmen können, kann noch nicht endgültig diskutiert werden.

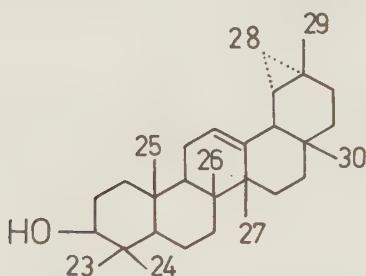
Regeln für Oxydationsgrad und bevorzugte Ansatzpunkte der Oxydierungsreaktionen lassen sich beim Betrachten der verschiedenen Substanzen nicht ohne weiteres feststellen. Die Zahl der wahrgenommenen Differenzierungsmöglichkeiten ist hier sehr groß. Bei der Auswertung von 140 pentazyklischen Triterpenen der α - und β -Amyrinreihe sind jedoch einige Schwerpunkte festzustellen. Die mittlere Oxydationszahl (= Anzahl der oxydierten C-Atome, OH-Gruppe am C-3 nicht mitgerechnet) beträgt 2,52. Sie erreicht ihr Maximum bei 5,0.

Eine der üblichsten Reaktionen ist die Methylgruppenoxydierung, für die sich ein anschauliches Beispiel in *Eucalyptus globulus* findet (siehe Figur 70).



Figur 70: α -Pinen (1) und seine Oxydationsprodukte (2-4) in *Eucalyptus globulus* (GUENTHER [105]).

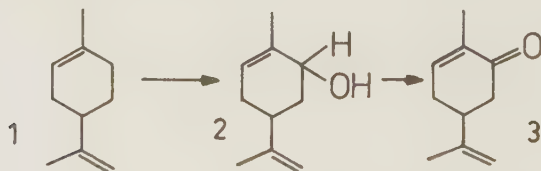
Bei den ausgewerteten Triterpenen greifen 52 % der beobachteten Reaktionen an den Methylgruppen an. Davon bleiben 40,7 % bei den Alkoholen stehen, 5,6 % enden bei den Aldehyden und 53,7 % werden bis zur Säure oxydiert. Figur 71 zeigt, wie weit die einzelnen Gruppen von Oxydierungen betroffen sind.



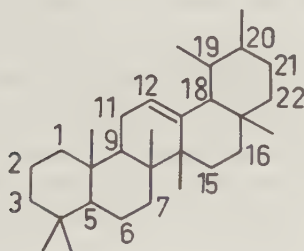
	Anzahl der entstandenen			Oxydierungen
	Alkohole	Aldehyde	Säuren	insgesamt
C 23,24	35	5	11	51
C 25	0	0	0	0
C 26	0	0	0	0
C 27	3	0	2	5
C 28,29	3	3	19	25
C 30	31	2	63	96

Figur 71: Verteilung der Methylgruppenoxydationen von 140 pentacyklischen Triterpenen (Formeln zum Auswerten aus DEVON und SCOTT [69]).

Die Carboxylgruppen der in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen Sn-1 und Sn-2 erscheinen somit als Schlußglied einer häufig festzustellenden Oxydationskette.



Figur 72: Der biogenetische Weg vom Limonen (1) zum Carvon (3) in *Carum carvi* (SANDERMANN [106]).



	Oxydierung bis zum		Oxydierungen
	Alkohol	Keton	insgesamt
C 1	2	1	3
C 2	26	0	26
C 3	obligat.	7	7
C 5	1	n.mögl.	1
C 6	7	1	8
C 7	2	0	2
C 9	0	n.mögl.	0
C 11	1	12	13
C 12	0	n.mögl.	0
C 15	4	0	4
C 16	41	3	44
C 18	1	n.mögl.	1
C 19	5	0	5
C 20	3	n.mögl.	3
C 21	20	3	23
C 22	24	0	24

Figur 73: Verteilung der Oxydierungen im Ringskelett von 140 pentazykl. Triterpenen.

Eine weitere wichtige Beobachtung betrifft die Oxydation von Terpenen in der Nachbarschaft von Doppelbindungen (siehe Figur 72). Da diese oft vorkommenden Reaktionen immer in α -Stel-

lung zur Äthylengruppe stattfinden, können sie zur Erklärung der Hydroxylierung der Verbindung Sn-2 am C-20 nicht herangezogen werden (vergleiche auch SANDERMANN [90]).

Figur 73 zeigt die Verteilung der Oxydierungen am Ringskelett. Neben dem C-12, das bekanntlich auch im Laborversuch äußerst inert reagiert (TEMPLETON [107]), weist bei den untersuchten Verbindungen lediglich das C-9 kein Oxydationsprodukt auf. Bemerkenswerte Schwerpunkte liegen dagegen am C-2, C-16, C-21 und C-22. Erwähnenswert ist die starke Tendenz zur Ketonbildung am C-11.

Die in den Figuren 71 und 73 zusammengetragene Statistik bedarf zu ihrer Auswertung noch einige Erläuterungen, die den „biogenetischen Stellenwert“ der O-Funktionen betrifft. Bei der Betrachtung des Biogenese-Schemas auf Seite 107 erkennt man leicht, daß eine Stabilisierung der im Zuge der Biogenese auftretenden Carbonium-Zwischenstufe durch Einfangen eines OH-Anions erfolgen kann. Man kann die auf diesem Weg entstandenen O-Derivate, wie insbesondere auch die quasi obligatorisch hydroxylierten 3-OH-Triterpene, als die im Zuge der Biosynthese oxydierten Triterpene abtrennen von der Gruppe, die offensichtlich erst im Verlauf weiterer sekundärer Umwandlungen entstanden sind.

Sn-1 gehört zu der zuerst genannten Gruppe, bei der unter Bildung einer 12,13-Doppelbindung die Stabilisierung der Carbonium-Zwischenstufe unter H^+ -Abspaltung erfolgt ist. Bei den Triterpenen der zweiten Gruppe sind es besonders die Stellungen an den C-Atomen 2,16,21,22,23,24 und 30, die hydroxyliert werden und damit zu primären und sekundären Alkoholen führen. Sn-2 gehört zu den bisher seltenen Varianten mit tertiärem Hydroxyl. Über selektive Fermentsysteme, die zu diesen unterschiedlichen Hydroxylierungen führen, fehlen zur Zeit jegliche Kenntnisse.

6.2. Analytik.

Es kann in diesem Kapitel kein vollständiger Überblick auf die Methoden der chemischen Analyse der pentazyklischen Triterpene gegeben werden. Es soll aber versucht werden, einige im engen Zusammenhang mit der Isolierung der in der vorliegenden Arbeit gefundenen Substanzen stehenden Probleme herauszustellen.

Als heute allgemein verwendete analytische Hilfsmittel können Dünnschichtchromatographie (DC), Infrarot-, Kernresonanz- und Massenspektrometrie angesehen werden.

Die Dünnschichtchromatographie dient zum Auffinden der pentazyklischen Triterpene in einem Pflanzenextrakt oder einem sonstigen Stoffgemisch und zur groben Einschätzung einer Verbindung, soweit sie durch das Polaritätsverhalten ausgedrückt werden kann. Sichtbarmachung der Substanzflecke erfolgt bevorzugt durch das äußerst empfindliche Chlorsulfonsäure-Reagens (siehe Kapitel „5.1.1. Chromatographie“), kann aber auch durch andere, meist saure Sprühlösungen erfolgen. Die Verwendung von Fertigplatten mit organischen Bindungsmitteln sollte nur bedingt empfohlen werden, da all diese Sprühmittel durch ihr stark aggressives Verhalten leicht zu Verkohlungen führen können.

Als stationäre Phase werden meist Aluminiumoxyd oder Kieselgel benutzt. Doch gab es auch Versuche mit imprägniertem Papier (siehe NISHIOKA [108], HASHIMOTO und CHATANI [109], TSCHESCHE und POPPEL [110]) und Ionenaustauscherpapier (TSCHESCHE u.a. [111]).

Zur Trennung sehr ähnlicher Verbindungen wie etwa der beiden isomeren Triterpene Ursol- und Oleanolsäure werden auch mit Silbernitratlösung imprägnierte Kieselgelplatten empfohlen (BARUA [112]) und mit Kieselgur G beschichtete Platten eingesetzt (ELGAMAL und FAYEZ [113]).

Als mobile Phase werden eine ganze Reihe von Fließmitteln verwendet. Zu der vorliegenden Arbeit wurde ein variables, sehr brauchbares Toluol-Aceton-System benutzt, das deutliche

	Toluol/ Aceton 8:2	Toluol/ Aceton 7:3	Toluol/ Aceton 6:4
Ursolsäure	49	59	68
Oleanolsäure	70	73	77
β -Sitosterin	51	59	69

Figur 75: Rf-Werte ($\times 100$) von Ursolsäure und Oleanolsäure in verschiedenen Toluol/Aceton-Laufmitteln (DC, Kieselgel). β -Sitosterin als Referenzsubstanz.

Unterschiede in der Laufhöhe von Ursol- und Oleanolsäure zeigte (siehe Figur 75). Vergleiche dazu auch STAHL [114].

Die NMR-Spektren von Triterpenen sollten, wenn möglich, mit 100 MHz-, oder noch größeren Geräten aufgenommen werden. Routineanwendung mit 60 MHz-Instrumenten wird auf Grund der zahlreichen, sich meist überlagernden CH_3 -, CH_2 - und CH -Resonanzen vor allem in der Ursolsäurereihe nur schwer zu interpretierende Ergebnisse bringen. Dennoch ist es gelungen, zumindest alle Methylsignale der wichtigsten Triterpenklassen richtig zuzuordnen und diese Zuordnungen auch mit Erfolg bei der Aufklärung neuer Verbindungen zu benutzen (siehe CHEUNG und WILLIAMSON [115], SHAMMA u.a. [116], KARLINER und DJERASSI [117]).

Verschiebungsreagenzien können für die Auslegung der schwierigen Spektrenbilder nützlich sein. So beschreibt WILSON [118] die durch Benzol verursachte Resonanzverschiebungen von Methylgruppen und Protonen in der Nähe polarer Gruppen. In diesem Zusammenhang sollte auch das Trichloracetylisocyanat (TAI) genannt werden (vergleiche GOODLETT [73], TREHAN u.a. [74]); sein unmittelbarer Nutzen liegt in der Umsetzung mit OH-Gruppen und der Ausbildung von scharfen NH-Signalen (siehe

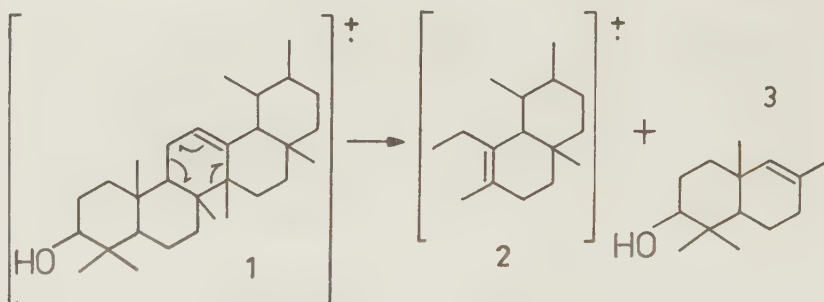
Kapitel „4.3.7. ^1H -NMR-spektroskopischer Nachweis der Alkoholgruppen).

Die IR-Spektroskopie erlaubt schnell und mit wenig Aufwand die Einordnung und Charakterisierung der verschiedenen Triterpenverbindungen. In einer Reihe von Arbeiten hat COLE [119-129] ausführliches Material über die Absorptionen von funktionellen Gruppen zusammengetragen. Eine Unterscheidung der wichtigsten Triterpentypen wurde durch die Arbeit von SNATZKE [72] ermöglicht.

Eine weitere Anwendung findet die IR-Spektrometrie bei der Identitätsüberprüfung zweier Substanzen: Sind die Spektren von authentischer Probe und Vergleichssubstanz deckungsgleich (insbesondere im sogenannten „fingerprint“-Bereich), so wird im allgemeinen auf Identität beider Verbindungen geschlossen. Doch ist diese Schlußfolgerung nur mit Vorsicht zu ziehen, da in der Literatur (CUTLER [130]) Beispiele angeführt werden, wonach diastereomere Verbindungen durchaus deckungsgleiche IR-Spektren aufweisen können.

Die Massenspektrometrie ist wahrscheinlich das wichtigste Hilfsmittel bei der Strukturaufklärung der pentazyklischen Triterpene. Sie ermöglicht (eventuell zusammen mit der C,H-Analyse) in den meisten Fällen die sofortige Feststellung der Summenformel. Daneben bietet sie hier bei diesen Verbindungen ein auffälliges Fragmentierungsmuster, das durch die Lage der Doppelbindung bestimmt wird, die entweder schon ursprünglich vorhanden ist oder erst durch Wasser- oder Acetatabspaltung geschaffen wird. Die Terpene der α - und β -Amyrin-Reihe, die durch eine 12,13-Doppelbindung gekennzeichnet sind, werden durch eine Art Retro-DIELS-ALDER-Reaktion (RDA) gespalten und ergeben geradzahlige Bruchstücke, die unter den sonst vorherrschenden ungeradzahligen Fragmenten besonders auffällig sind (siehe Figur 76).

Sind keine Substituenten vorhanden, wird das Bruchstück (2) bei m/e 218 auftreten. Zahlreiche substituierte α - und β -Amyrin-Derivate zeigten starke Peaks, die diesem Zerfallsmuster zugeordnet werden können (BUDZIKIEWICZ [131]). So muß die



Figur 76: Hauptfragmentierung des α -Amyrins durch RDA-Reaktion.

Ursolsäure (Verbindung Sn-1), deren Molekulargewicht um 30 Masseeinheiten höher liegt, ein RDA-Fragment von m/e 248 zeigen (siehe Figur 13, Seite 39), der Ursolsäuremethylester ein entsprechendes m/e 262 aufweisen (siehe Figur 14, Seite 41). Etwas anders gelagert ist das Verhalten der Verbindung Sn-2. So trägt Sn-2-methyliert neben der Estergruppierung noch ein tertiäres Hydroxyl. Erwartetes RDA-Fragment wäre demnach m/e 278, tatsächlich beobachtetes ist aber m/e 260. Offensichtlich wird hier zuerst Wasser verloren, bevor die übliche Spaltung ansetzt. Bedeutend weniger intensiv fällt denn auch der geradzahlige DIELS-ALDER-Peak aus, der sonst meist das Massenspektrum darstellt (siehe Figur 32, Seite 57). Weitere bedeutende Peaks erklären sich vor allem durch Wasserabspaltung (Essigsäureabspaltung bei Acetaten), durch den Verlust von CO_2 bei den Säuren (COOCH_3 -Abspaltung bei Methyl-estern) und durch Kombinationen der verschiedenen Möglichkeiten in Verbindung mit dem Verlust von Alkylbruchstücken (KARLINER und DJERASSI [117], BUDZIKIEWICZ u.a. [132], HUNECK und SNATZKE [133], DJERASSI u.a. [134]).

Unter den weiteren analytischen Methoden, die bei den Tri-terpenen Anwendung finden, scheinen folgende Techniken be-

sonders hervorhebenswert zu sein: die Gaschromatographie (TSUKAMOTO [135]), die Röntgenstrukturanalyse (z.B. TANAKA u.a. [136], COOPER [137]), die hochauflösende Massenspektrometrie (HUNECK [138]), sowie CD (Circular Dichroism, SNATZKE u.a. [139], FISCHER u.a. [140]) und ORD (Optical Rotatory Dispersion, KARLINER und DJERASSI [117], DJERASSI u.a. [141], RENWICK u.a. [142]).

Eine zusammenfassende Arbeit über die Analytik von pentazyklischen Triterpenen findet sich bei KULSHRESHTA u.a. [143].

6.3. Biologische und pharmakologische Wirkung.

Zu den Triterpenen werden alle aus ursprünglich sechs Isopreneinheiten aufgebauten Verbindungen gezählt. Zwei Hauptgruppen können dabei unterschieden werden: Die Steroide und die Triterpene im eigentlichen Sinn. Zwischen diesen beiden Gruppen herrscht eine deutliche Diskrepanz. Die Steroide besitzen eine auffällige biologische und pharmakologische Wirkung im tierischen Organismus (z.B. Herzglykoside). Es sind für sie aber keine biologischen Funktionen für pflanzliche Organismen bekannt. Auch die Triterpene im engeren Sinn haben keine eigentlichen Funktionen in den Pflanzen. Erwähnenswert ist lediglich ihr häufiges Vorkommen in den Wachstumsüberzügen von Blättern und Früchten (so z.B. bei Äpfeln und Birnen). Vielleicht verstärken sie an dieser Stelle den Schutz gegen Mikroorganismen und Insekten (HARBORNE [144]); vielleicht tragen sie nur zu einer Erhöhung der Wasserundurchlässigkeit der Kutikula bei (BRIESKORN [145]). Ihre Wirkung auf fremde Organismen ist viel inerte als die der Steroide. Dennoch ist eine ganze Reihe von auffallenden Wirkungen bekannt.

Für biologische und pharmakologische Effekte spielen physikalisch-chemische Eigenschaften eine große Rolle. Für die Triterpene kann ganz allgemein gesagt werden, daß eine Erhöhung der biologischen Aktivität einer Steigerung der Polarität parallel läuft. Die Pflanze hat zwei Mechanismen zur Verfügung, um den relativ lipophilen Grundkörper stärker polar und damit auch ausscheidungsfähiger (in die Vakuolen) zu machen:

I. Durch Oxydationen, wie z.B. Methylgruppenoxydierungen, oxydative Ringspaltungen.

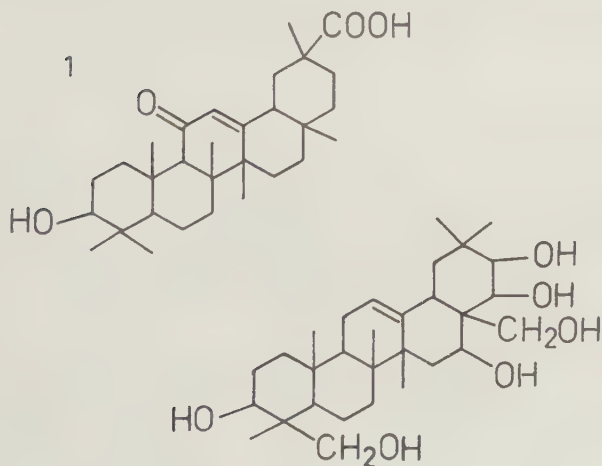
II. Durch die Bindung an Zucker.

Diese beiden Möglichkeiten sind oft miteinander kombiniert. Ein Beispiel für (I.) geben die hochoxydierten und stark wirksamen Cucurbitacine. Für die wirksamen pentazyklischen Triterpene gilt daneben in der Regel auch die Verwirklichung der zweiten Möglichkeit. Eine pharmakologisch bedeutsame Grup-

pe bilden hier die Saponine des α - und β -Amyrin-Typus. Sie tragen jeweils mehrere Zucker, die glykosidisch oder bei Vorliegen von Carboxylgruppen auch esterartig gebunden sind. Sie kommen in alten Arzneidrogen wie *Radix Liquiritiae*, *Cortex Quillajae*, *Hedera Helix*, *Radix Primulae*, *Radix Saponariae* und *Lignum Guajaci* vor. Als ihre wichtigsten Vertreter werden stets Abkömmlinge des β -Amyrins genannt.

Ihre pharmakologische Wirkung ist schwierig zu beschreiben; gesichert scheint lediglich ihre expectorierende Eigenschaft, wie denn auch die meisten der oben genannten Drogen als Expectorantien benutzt werden.

Zwei dieser Triterpen-Saponine haben eine besondere Bedeutung: Glycyrrhizin, das β -Glucuronosyl-D-glucuronsäure-Derivat der Glycyrrhetinsäure aus *Radix Liquiritiae* (siehe Figur 77) besitzt ebenso wie die biologisch wirksamen Steroide der Nebennierenrinde eine α,β -ungesättigte Ketogruppe. Möglicherweise - die Ansichten widersprechen sich - beruht die pharmakologische

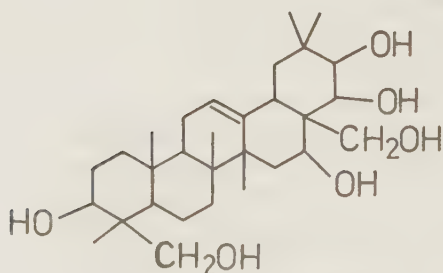


Figur 77: Glycyrrhetinsäure (1) und Protoaescigenin (2).

Wirkung des Süßholzes auf dieser Struktureigentümlichkeit. Das zweite Saponin, dem direkt eine Wirkung nachgesagt wird, ist das Aescin aus *Aesculus hippocastanum*, das ödemausschwemmende und gefäßfragilitätsmindernde Eigenschaften haben soll. Figur 77 zeigt sein Aglykon Protoaescigenin.

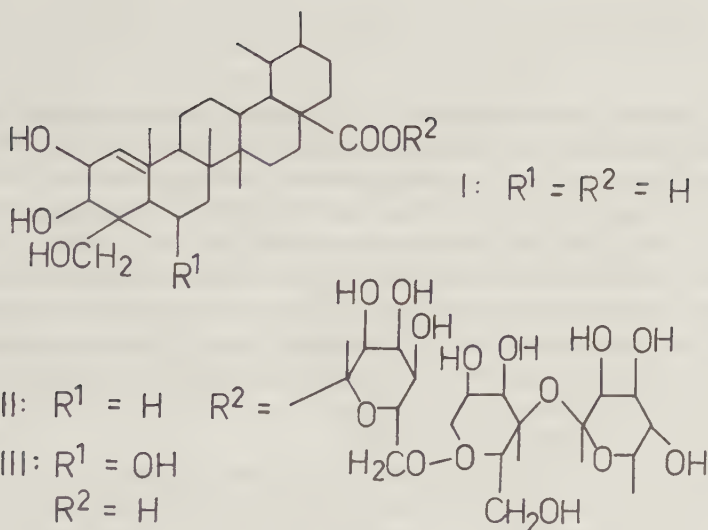
In jüngster Zeit wurde die Isolierung von Saponinen des β -Amyrin-Typs aus zwei im Fernen Osten schon lange als Arzneidrogen verwendeten Pflanzen berichtet (SHIBATA [146]): Die Wurzeln von *Platycodon grandiflorum*, in Gebrauch als Expectorans und Antitussivum, enthielten Glykoside der 2 β ,3 β ,16 α ,23-Tetrahydroxy-oleanolsäure und der 2 β ,3 β ,16 α ,23,24-Pentahydroxy-oleanolsäure. Aus den Wurzeln von *Bupleurum falcatum* wurden drei ebenfalls vom Oleanan abgeleitete Saponine isoliert. Zwei von ihnen zeigten zentral dämpfende, entzündungswidrige und den Plasma-Cholesterin-Spiegel senkende Wirkung.

RAO und COCHRAN [147] beschreiben die Antivirus-Wirkung der acetylierten Gymnemageninsaponine (siehe Figur 78). Sie erprobten ebenso mit gutem Erfolg eine Reihe von elf natürlich vorkommenden, ähnlich gebauten Saponinen gegen den Grippe-Virus A.



Figur 78: Gymnemagenin.

Die Wirkstoffe von *Centella (Hydrocotyle) asiatica*, einer Umbellifere aus Madagaskar mit aktueller pharmakologischer Bedeutung, gehören im Gegensatz zu den bisher genannten Ver-



Figur 79: Triterpene aus *Centella asiatica*: I = Asiatsäure, II = Asiatinosid, III = Madecassäure (nach CHASSEAUD u.a. [149]).

bindungen dem α -Amyrin-Typus an (siehe Figur 79). Ihnen wird heilende Wirkung bei in den Tropen auftretenden Geschwüren (leprösen und tuberkulösen Geschwülsten, Ekzemen und varikösen Geschwüren) zugeschrieben (BOITEAU und RATSIMAMANGA [148]). Bemerkenswert sind schließlich die Versuche von HOLTZEM [150], der die Wirkung des β -Amyrin-Abkömmlings Oleanolsäure auf das Wachstum und die Entwicklung von Fliegen (*Drosophila melanogaster*) untersuchte. Zusätzliche Fütterung mit reiner Oleanolsäure ergab 13 Generationen hindurch eine deutliche Steigerung der Vermehrung gegenüber den mit Normalfutter ernährten Kontrollkulturen.

7. DISKUSSION

Die in der Einleitung getroffene Feststellung hinsichtlich der relativen Unerforschtheit der Caprifoliaceen-Familie kann, zumindest was die Art *Sambucus nigra* anbelangt, nicht mehr so eindeutig aufrecht erhalten werden. Im Zeitraum der Fertigstellung der vorliegenden Arbeit erschienen vier weitere Veröffentlichungen, die sich mit den Inhaltsstoffen dieser alten Arzneidroge beschäftigten. Daher können nunmehr, eingerechnet der vor wenigen Monaten herausgegebenen Ergebnisse von WILLUHN und RICHTER [36], allein in den am häufigsten untersuchten Früchten an die 70 sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe gezählt werden.

Das gesteckte Ziel dieser Arbeit, einen weiteren Beitrag zur Aufklärung der chemischen Bestandteile zu liefern, ist mit der Identifizierung zweier bisher nicht bekannter Triterpene somit zwar erreicht, vermag aber wegen des Fehlens entsprechender pharmakologischer Untersuchungen wenig zur Aufklärung der durch die tägliche Beobachtung angenommenen diaphoretischen Wirkung beizutragen. Allerdings kann gesagt werden, daß auch die anderen bisher isolierten Substanzen wahrscheinlich nicht zur Erklärung herangezogen werden können. Die Behauptung einer rein auf dem heißen Wasser des Blütenauszuges beruhenden Wirkung ist also immer noch nicht schlagkräftig zurückgewiesen.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit lag in einer möglichen Ausnützung gefundener Verbindungen zur Aufhellung chemotaxonomischer Zusammenhänge, die im Fall der Caprifoliaceen besonders was ihre Stellung zwischen den Rubiaceen und den Valerianaceen (siehe WETTSTEIN [151]) und ihre vermutete Verwandtschaft zu den Cornaceen (siehe HUTCHINSON [152]) betrifft, von Interesse wären. Da aber pentazyklische Triterpene im höheren Pflanzenreich weit verbreitet sind (siehe SWAIN [153]) und insbesondere die Ursolsäure beinahe schon als eine ubiquitäre Verbindung bezeichnet werden muß, wird eine tiefergehende Erörterung dieser Problematik keine greifbaren Ergebnisse bringen können. Im Falle der 20ß-Hydroxy-ur-

solsäure liegt zwar eine auffällige, weil sonst nur in sehr wenigen Pflanzen verwirklichte Oxydierung vor. Aber gerade dieses bis jetzt so selten entdeckte Auftreten macht sie für chemotaxonomische Vergleiche wenig nützlich - es sei denn, in zukünftigen Untersuchungen würden die übrigen Arten der Gattung *Sambucus* systematisch auf das Vorkommen von Ursolsäure und 2oß-Hydroxy-ursolsäure untersucht werden. Das Vorliegen beider Substanzen würde dann auf eine allerengste Verwandtschaft zu *Sambucus nigra* hindeuten; fände sich in bestimmtem Fällen die Ursolsäure nur alleine, wäre die Ähnlichkeit schon geringer; würde keine der beiden Verbindungen gefunden werden, müßten die Unterschiede schon beträchtlich sein.

8. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurden die bisherigen Kenntnisse über die alte Arzneipflanze *Sambucus nigra* (Holunder) zusammengestellt, wobei besondere Betonung auf ihre Anwendung und Wirkung, sowie die früheren chemischen Untersuchungen und die dabei entdeckten Inhaltsstoffe gelegt wurde.

2. Die Isolierung und die Identifizierung zweier bisher hier noch nicht bekannter pentazyklischer Triterpene des α -Amyrin-Typs (Verbindung Sn-1 und Sn-2) aus den Blüten von *Sambucus nigra* wurden beschrieben.

Die Extraktion der lufttrockenen Droge erfolgte mit Toluol als Lösungsmittel. Eluierung des Toluol-Extraktes mit verschiedenen Solventien über Celite führte zu dem Äthylacetat-Auszug, der durch ein Toluol/Aceton-Gemisch mit Kieselgel als stationärer Phase aufgetrennt wurde und die Isolierung der beiden Triterpene ermöglichte.

Sn-1 wurde mit Hilfe einer identischen, aus *Arctotaphylos uva-ursi* gewonnenen Substanz als Ursolsäure (= 3 β -Hydroxy-ursan-12-en-28-carbonsäure) bestimmt.

Sn-2 wurde durch Kombination verschiedener Methoden (Zuordnung zu den Triterpen-Grundtypen nach SNATZKE u.a. [72], Trichloracetylisocyanat als NMR-Verschiebungsreagens zum Nachweis der alkoholischen Gruppen), durch die Beobachtung der leichten Laktonisierbarkeit und durch Spektreninterpretation als 2 α β -Hydroxy-ursolsäure (= 3 β ,2 α β -Dihydroxy-ursan-12-en-28-carbonsäure) identifiziert.

Die Synthese einer Reihe von Derivaten beider Substanzen diente zur Unterstützung und Bestätigung der gefundenen Resultate.

Die Ursolsäure ist als eine im höheren Pflanzenreich weit verbreitete Verbindung bekannt, während es sich bei dem Begleittrypen um einen höchst seltenen Naturstoff handelt, der bisher ein einziges Mal - allerdings nicht in genuiner Form, sondern als acetylierter Methylester - in der Literatur

(LAWRIE [154]) als Bestandteil der Apfelschalen beschrieben wurde.

3. Abschließend wurde ein Überblick auf die pentazyklischen Triterpene im Pflanzenreich, insbesondere auf ihre Biogenese, auf angewandte analytische Methoden, sowie biologische und pharmakologische Wirkungen gegeben.

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. HÖFLER, zit. n. G.MADAUS, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel, S. 2417, Thieme Verlag, Leipzig, 1938.
2. SÖHNS, zit. n. E.GILG und D.N.SCHÜRHOFF, Aus dem Reiche der Drogen, S. 180, Schwarzeck Verlag, Dresden, 1926.
3. V.F.KOSTELETSKY, Allg. med.-pharm. Flora, 2. Bd., S. 520, Holl Verlag, Mannheim.
4. E.HALLIER, Flora von Deutschland, Bd. 28, S. 110, 5. Aufl., E.Köhler, Gera.
5. R.HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 3, S. 372, Birkhauser Verlag, Basel-Stuttgart, 1964.
6. W.RICHTER und G.WILLUHN, Dt. Apoth. Ztg. 25, 947 (1974).
7. G.HEGI, Illustrierte Flora von Mittel-Europa, Bd. 6, S. 235 ff., Lehmann's Verlag, München.
8. G.FISCHER, Heilkräuter und Arzneipflanzen, S. 92, 2. Aufl., Haug Verlag, Berlin-Tübingen-Saulgau, 1947.
9. G.MADAUS, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel, 3. Bd., S. 2415, Thieme Verlag, Leipzig, 1938.
10. GATHERCOAL und WIRTH, Pharmakognosy, S. 614, Lea und Fe-liger, Philadelphia, 1949.
11. C.STERNE und A.v.ENDERES, Unsere Pflanzenwelt, S. 221 f., Safari Verlag, Berlin, 1955.
12. F.AUSTER und J.SCHÄFER, Arzneipflanzen (9. Lieferung): 25 Sambucus nigra, VEB Georg Thieme, Leipzig, 1956.
13. G.MADAUS, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel, Bd. 3, S. 2415 ff., Thieme Verlag, Leipzig, 1938.
14. C.v.LINNE, Lappländische Reise, S. 45, Insel Verlag, 1975.
15. A.KERNER v.MARILAUN, Pflanzenleben, Bd. 3, S. 424, Bibliographisches Institut, Leipzig-Wien, 1916.
16. R.WASICKY, Physiopharmakognosie, S. 560 f., Verlags-buchhandlung Fromme, Wien, 1932.
17. W.WINKELMANN, Die Wirkstoffe unserer Heilpflanzen, S. 239 f., Verlag O.Walter, Olten, 1951.
18. H.DIEMER, Drogenkunde, S. 184, 5. Aufl., VEB Fachverlag Leipzig, 1969.

19. J.BERENDES, Die Pharmazie bei den alten Kulturvölkern, S. 190,230, Olms-Verlagsbuchhandlung, Hildesheim, 1965.
20. E.GRABNER, Volksmedizin, S. 27,41,58,60,79,97,106,132, 166,172,177,325, Wissenschaftliche Buchgesellschaft, Darmstadt, 1967.
21. DRAGENDORFF, Handbuch der Heilpflanzen, Bd. 2, S. 640.
22. A.LONICERUS, Kreuterbuch, 1679, Reprint by Verlag Kölbl, München, 1962.
23. MATTHIOLUS, New-Kreuterbuch, S. 450 D.,1626.
24. F.EICHHOLTZ, Lehrbuch der Pharm., 6. Aufl., S. 198, Springer Verlag, Berlin, 1948.
25. A.KUSSMAUL, Jugenderinnerungen eines alten Arztes, 20. Aufl., S. 160, Lehmann Verlag, München, 1960.
26. W.WIECHOWSKI, Med. Klin. 23, 590 (1927).
27. K.J.SCHMERSAHL, Naturwissenschaften 51, 361 (1964).
28. H.MUCH, A.HAIN und SCHUBERT, Münch. med. Wschr. 78, 1992 (1931).
29. KUNZ, Arch. Pharmaz. 223, 704 (1885).
30. H.HAENSEL, Pharmaz. Ztg. 50, 412 (1905).
31. J.V.LLOYD, Chem. Zentralbl. S. 177 (1921, III).
32. C.WEHMER, Pflanzenstoffe, Bd. 2, S. 1184, Erg.-Bd. S. 181 Fischer, Jena, 1931.
33. H.H.STROH, Naturwissenschaften 45, 547 (1958).
34. H.H.STROH, H.SCHÄFER und H.HASCHKE, Z. Chem. 2, 373 (1962)
35. E.GILDEMEISTER und F.HOFFMANN, Die ätherischen Öle, hersg. von S.Treibs u. K.Bournot, Bd. 7, Akademie-Verlag, Berlin, 1961.
36. G.WILLUHN und W.RICHTER, in: 23. Vortragstagung der Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung, Groningen (1975), ref. in Dt. Apoth. Ztg. 25, 912 (1975).
37. W.K.SCHWARZE und E.GÜNTHER, Pharmzie 1, 153 (1946).
38. SACK und TOLLENS, Ber. Chem. Ges. 37, 4115 (1904).
39. KRUGER, DAGNEAUX-NYMWEGEN, Chem. Weekbl. 39, 97 (1942), ref. in F.AUSTER u. J.SCHÄFER, Arzneipflanzen (9. Lieferung): 25 Sambucus nigra, VEB Georg Thieme, Leipzig, 1956.
40. G.SCHEERER, Pharmazie 2, 460 (1947).
41. L.REICHEL, H.H.STROH und W.REICHWALD, Naturwissenschaften 44, 468 (1957).

42. J.LEIFERTOVA u.a., Acta Fac. Pharm., Univ. Comeniana 20, 57-82 (1971), ref. in C.A. 77, 16587x.
43. F.MALMEJAC, Chem. Zentralbl. 2, 433 (1901).
44. E.BOURQUELOT und E.DANJOU, Chem. Zentralbl. 2, 1267 und 1503 (1905).
45. W.K.SCHWARZE und E.GÜNTHER, Pharmazie 1, 320 (1946).
46. WILLSTÄTTER und STOLL, Unters. Üb. Chlorophyll, Berlin 1913.
47. DE SANCTIS, Sulla esistenza della coniina nel Sambucus nigra, Atti Reale Accad. Lincei, Rendiconti Classe Sci. Fis., Mat. e Nat. [5] 3 (2e semestre), 373 (1894), zit. bei R.HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 3, S. 371, Birkhäuser Verlag, 1964.
48. Z.N.GUSEJNOVA, Azerbajdz. med. z. 42 (1965) Nr. 6, S. 29-35.
49. G.PRIVAT, F.GAL, A.TEMPLE und J.PELLECQUER, Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier 30, Fasc. 3, 167-172 (1970).
50. S.R.JENSEN und B.J.NIELSEN, Phytochemistry 13, 517 (1974).
51. T.INOUE und K.SATO, Phytochemistry 14, 1871 (1975).
52. H.YARDIN, Pharm. Zhalle 77, 785 (1936).
53. B.LUWISCH, Chem. Zentralbl. II, 2924 (1926).
54. J.ZELLNER, Monatsh. 47. 151 (1926).
55. S.HUNECK und G.SNATZKE, Chem. Ber. 98, 120 (1965).
56. W.LAWRIE, J.McLEAN und A.C.PATON, Phytochemistry 3 (2), 267 (1964).
57. E.J.GIGIENOVA u.a., Khim. Priir. Soedin. 5 (2), 117 (1969), ref. in Chemistry of Natural Compounds, Bd. 5, Nr. 2, S. 100 (1969).
58. E.I.GIGIENOVA und A.V.UMAROV, Khim. Priir. Soedin. 8 (1), 3-8 (1972), ref. in: C.A. 77, 45492t.
59. V.H.HEYWOOD, Plant Taxonomy, E.Arnold, London, 1967.
60. R.D.GIBBS, Chemotaxonomy of Flowering Plants, Bd. 1, S. 27 f., McGill-Queens Univ. Press, Montreal-Londen, 1974
61. T.FUJITA, J.IWASA und C.HANSEN, J. Amer. Chem. Soc. 86, 5175 (1964).
62. C.HANSCH und W.J.DUNN, J. Pharm. Sci., Bd. 61, Nr. 1, 1972.

63. R.HÄNSEL, *Phytochemistry* 11, 863 (1972).
64. R.HÄNSEL, *Dt. Apothek. Ztg.* 13, 411-414 (1965).
65. J.KRIEGLSTEIN, *Dtsch. med. Wschr.* 98, 1509 (1973).
66. E.STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, 2. Aufl., S. 199, Springer Verlag, 1967.
67. D.J.PASTO und C.R.JOHNSON, *Organic Structure Determination*, S. 322, Prentice-Hall, 1969.
68. G.EGE, *Zahlentafeln zur Elementaranalyse*, Verlag Chemie 1966.
69. T.K.DEVON und A.S.SCOTT, *Handbook of Naturally Occuring Compounds*, Bd. 2: Terpenes, Academic Press, New York und London, 1972.
70. H.TROMMSDORF, *Arch. Pharmaz.* 130, 273 (1854).
71. J.SEIBL, *Massenspektrometrie*, S. 114, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M., 1970.
72. G.SNATZKE, F.LAMPERT und R.TSCHESCHE, *Tetrahedron* 18, 1417-1431 (1962).
73. V.W.GOODLETT, *Anal. Chem.* Vol. 37, Nr. 3, 431 (1965).
74. I.R.TREHAN und C.MONDER, *Tetrahedron Letters* 1, 67 (1968).
75. R.HÄNSEL u.a., *Arch. Pharmaz.* 8, 653 (1975).
76. WINTERSTEIN u. WIEGAND, *Ztschr. physiol. Chem.* 199, 64 (1931).
77. K.W.MERZ u. H.TSCHUBEL, *Chem. Ber.* 5, 1017 (1939).
78. A.KATRITZKY, *Physical Methods in Heterocyclic Chemistry*, Bd. 2, S. 189, 252, Academic Press, New York-London, 1963.
79. A.R.H.COLE, *Infrared Spectra of Natural Products*, in: *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, ed. by Zechmeister, Bd. 13, S. 1-69, Springer, Wien, 1956.
80. K.NAKANISHI, *Infrared Absorption Spectroscopy*, S. 44, Nankodo, Tokio, 1962.
81. J.BERMEJO u.a., *Tetrahedron Letters* 4649 (1967).
82. E.L.ELIEL, *Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen*, S. 131 ff., Verlag Chemie, 1966.
83. WINTERSTEIN u. STEIN, *Ztschr. physiolog. Chem.* 199, 64 (1931).
84. R.TSCHESCHE und G.WULF, *Chem. Ber.* 94, 2019 (1961).
85. *Deutsches Arzneibuch*, 7. Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag und Govi Verlag, 1968.

86. E.STEINEGGER und R.HÄNSEL, Lehrbuch der Pharmakognosie, S. 17, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1968.
87. O.WALLACH, Liebigs Ann. 239, 1 (1887).
88. L.RUZICKA, Experientia 9, 357 (1953).
89. L.RUZICKA in: Perspectives in Organic Chemistry, ed. by A.Todd, S. 265-314, New York, 1956.
90. W.SANDERMANN in: Comparative Biochemistry, ed. by M.Florin und H.S.Mason, Bd. 3, S. 591-630, New York-London, 1962.
91. L.D.WRIGHT, E.L.CRESSON, H.R.SKEGGS, C.D.E.MACRAY, C.H.HOFFMANN, D.E.WOLF und K.FOLKERS, J.Am.Chem.Soc. 78, 5273 (1956).
92. G.E.W.WOLSTENHOLME und C.M.O'CONNOR, Ciba Foundation Symposium on the Biosynthesis of Terpenes and Sterols, London, 1959.
93. H.RILLING, T.T.TCHEN und K.BLOCH, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 44, 167 (1958), ref. in: Comparative Biochemistry, Bd. 3, S. 591, Academic Press, New York-London, 1962.
94. S.CHAYKIN, J.LAW, A.H.PHILLIPS, T.T.TCHEN und K.BLOCH, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 44, 998 (1958), ref. in: Comparative Biochemistry, Bd. 3, S. 591, Academic Press, New York-London, 1962.
95. F.LYNEN, U.HENNING und I.KESSEL, Angew. Chem. 70, 738 (1958).
96. F.LYNEN, B.W.AGRANOFF, H.EGGERER, U.HENNING und E.M.MÜSLEIN, Angew. Chem. 71, 657 (1959).
97. T.SWAIN in: Comprehensive Biochemistry, Bd. 29 A, S. 228, ed. by M.FLORKIN und E.STOLZ, Elsevier, 1974.
98. R.CROTEAU, A.J.BURBOLT und W.D.LOOMIS, Phytochem. 11, 2459 (1972).
99. R.CROTEAU, A.J.BURBOLT und W.D.LOOMIS, Phytochem. 11, 2937 (1972).
100. M.LUCKNER, Der Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier, S. 107, Fischer Verlag, Stuttgart, 1969.
101. M.LUCKNER, Der Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier, S. 122-126, Fischer Verlag, Stuttgart, 1969.
102. H.PINHAS, D.BILLET, S.HEITZ und M.CHAIGNEAU, Bull. Soc. chim. Fr. 1890 (1967).

103. W.S.WOOD, *Lloydia*, Vol. 36, Nr. 3, 326 ff. (1973).
104. T.KUBOTA u.a., *Chem. Comm.* 1313 (1969).
105. E.GUENTHER, *The Essential Oils*, Bd. 4, S. 484, Van Nostrand, New York, 1950.
106. W.SANDERMANN, *J. prakt. Chemie* [2] 151, 160 (1938).
107. W.TEMPLETON, *An Introduction to the Chemistry of the Terpenoids and Steroids*, London, Butterworth, 1969.
108. I.NISHIOKA, *J. Pharm. Soc. Japan*, 78 (1958) 1428; 79 (1959) 1457, ref. in R.TSCHESCHE, F.LAMPERT und G.SNATZKE, *J. Chromatog.* 5, 217 (1961).
109. Y.HASHIMOTO und J.CHATANI, *Chem. and Pharm. Bull. (Japan)*, 7 (1959) 127, ref. in : R.TSCHESCHE, F.LAMPERT und G.SNATZKE, *J. Chromatog.* 5, 217 (1961).
110. R.TSCHESCHE und G.POPPEL, *Chem. Ber.* 92, 320 (1959).
111. R.TSCHESCHE, F.LAMPERT und G.SNATZKE, *J.Chromatog.* 5, 217-224 (1961).
112. A.K.BARUA, S.P.DUTTA und S.K.PAL, *J.Chromatog.* 31, 572 (1967).
113. M.H.A.ELGAMAL und M.B.E.FAYEZ, *Z. analyt. Chem.* 211, 190 (1969).
114. E.STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, 2. Aufl., S. 236 ff, (1967).
115. H.T.CHEUNG und D.G.WILLIAMSON, *Tetrahedron* 25, 119 (1969)
116. M.SHAMMA, R.E.GLICK und R.O.MUMMA, *J. Org. Chem.* 27, 4512 (1962).
117. J.KARLINER und C.DJERASSI, *J. Org. Chem.* 31, 1945 (1966).
118. R.G.WILSON und D.H.WILLIAMS, *Tetrahedron* 25, 155 (1969).
119. A.R.H. COLE, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* 13, 1 (1956).
120. A.R.H.COLE, *J. Chem. Soc.* 3807 (1954).
121. A.R.H.COLE, *J. Chem. Soc.* 3810 (1954).
122. W.BOTTOMLEY, A.R.H.COLE und D.E.WHITE, *J. Chem. Soc.* 2624 (1955).
123. A.R.H.COLE und D.W.THORNTON, *J. Chem. Soc.* 1007 (1956).
124. I.L.ALLSOP, A.R.H.COLE, D.E.WHITE und R.L.S.WILLIX, *J. Chem. Soc.* 4868 (1956).
125. A.R.H.COLE und D.W.THORNTON, *J. Chem. Soc.* 1332 (1957).
126. A.R.H.COLE und R.L.S.WILLIX, *J. Chem. Soc.* 1212 (1959).

127. A.R.H.COLE, G.T.A.MÜLLER, D.W.THORNTON und R.L.S.WILLIX, J. Chem. Soc. 1218 (1959).
128. A.R.H.COLE und G.T.A.MÜLLER, J. Chem. Soc. 1224 (1959).
129. A.R.H.COLE und A.J.MICHELL, J. Chem. Soc. 2005 (1959).
130. R.A.CUTLER, C.M.MARTINI und F.C.NACHOD, J. Amer. Pharm. Assoc. 697 (1954).
131. H.BUDZIKIEWICZ, C.DJERASSI und D.H.WILLIAMS, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. 2, Holden-Day, 1966.
132. H.BUDZIKIEWICZ, J.M.WILSON und C.DJERASSI, J. Amer. Chem. Soc. 85, 3688 (1963).
133. S.HUNECK und G.SNATZKE, Chem. Ber. 98, 120 (1965).
134. C.DJERASSI, H.BUDZIKIEWICZ und J.M.WILSON, Tetrahedron Letters 7, 263 (1962).
135. T.TSUKAMOTO, A.YAGI, K.MIHASHI und Y.MORI, Chem. Pharm. Bull. 16, 2123 (1968).
136. O.TANAKA, N.TANAKA, T.ONSAWA, Y.IITAKA und S.SHIBATA, Tetrahedron Letters 4235 (1968).
137. A.COOPER, Tetrahedron 22, 1379 (1966).
138. S.HUNECK und R.TÜMLER, J. Prakt. Chem. 38, 233 (1968).
139. G.SNATZKE, P.R.ENSILIN, C.W.HOLZAPFEL und K.B.NORTON, J. Chem. Soc. C 972 (1967).
140. F.FISCHER, P.PALITZSCH und S.HUNECK, Z. Chem. 7, 458 (1967).
141. C.DJERASSI, J.OSIECKI und W.CLOSSON, J. Amer. Chem. Soc. 81, 4587 (1967).
142. J.D.RENWICK und P.M.SCOPEs, J. Chem. Soc. (C) 2544 (1969).
143. M.J.KULSHRESHTA, D.K.KULSHRESHTA und R.P.RASTOGI, Phytochem. 11, 2369 (1972).
144. J.B.HARBORNE, Phytochemical Methods, S. 108 ff., Chapman, London, 1963.
145. C.H.BRIESKORN, Pharm. ZHalle 6, 235 (1956).
146. S.SHIBATA in: Phytochemische Kolloquien des Instituts für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München, ref. in: Pharmaz. Ztg. 39, 1549 (1975).
147. G.S.RAO und K.W.COCHRAN, J. Pharm. Sci. Vol. 63, Nr. 3, 471 (1974).

- 148. P.BOITEAU und A.R.RATSIMAMANGA, Fitoterapia 1 (41), 738 ff. (1957).
- 149. L.F.CHASSEAUD, B.J.FRY, D.R.HAWKINS, J.D.LEWIS, I.P.SWORD, T.TAYLOR und D.E.HATHWAY, Arzneim.-Forsch. 21, 1379 (1971).
- 150. H.HOLTZEM, Arzneim.-Forschung 7, 140 (1957).
- 151. R.WETTSTEIN, Handbuch der Systematischen Botanik, S. 934, Deulicke, Leipzig-Wien, 1935.
- 152. J.HUTCHINSON, The Genera of Flowering Plants, Dicotyledones, Vol. II, S. 82, Clarendon Press, Oxford, 1967.
- 153. T.SWAIN in: Comprehensive Biochemistry, Bd. 29 A, S. 238, ed. by M.Florkin und H.Stolz, Elsevier, 1974.
- 154. W.LAWRIE, J.MCLEAN und M.E.YOUNES, Chem. and Ind. 1720 (1966).

10. LEBENSLAUF

Ich wurde am 1. März 1945 als Sohn des Apothekers Albert Kußmaul und seiner Ehefrau Hilla, geborene Olizeg, in Kleinwallstadt/Mainfranken geboren.

Von 1951 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Kleinwallstadt. Im Herbst 1955 trat ich in das Humanistische Gymnasium in Aschaffenburg ein und legte dort im Juni 1964 die Reifeprüfung ab.

Vom September 1964 bis März 1966 studierte ich an der Universität in Würzburg (Fachrichtung Geschichte).

Im April 1966 begann ich in der Onkel-Tom-Apotheke in Berlin-Zehlendorf meine Praktikantenzeit, die ich mit der pharmazeutischen Vorprüfung im April 1968 abschloß.

Zum Sommersemester 1968 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Freien Universität Berlin, das ich im Frühjahr 1971 mit dem Ablegen der Pharmazeutischen Prüfung beendete.

Die Approbation als Apotheker erhielt ich im Oktober 1971.

Seit November 1971 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Seit dem 15. November 1974 bin ich am gleichen Institut als wissenschaftlicher Tutor tätig.

difo-druck · 8600 bamberg
untere königstraße 30